BAND 42, HEFT 1 · JULI 1961

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. SCHAFFNIT

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. BALDACCI, Mailand / Prof. Dr. H. BRAUN, Bonn / Prof. Dr. W. B. BRIERLEY, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. N. HIRATSUKA, Tokyo / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. KÖHLER, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. MÜLLER, Canberra / Prof. Dr. T. S. SADASIVAN, Madras / Prof. Dr. TR. SAVULESCU, Bukarest / Prof. Dr. K. SILBERSCHMIDT, São Paulo / Prof. Dr. E. C. STAKMAN, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. GÄUMANN
Zürich

M. KLINKOWSKI
Aschersleben

H. RICHTER
Berlin-Dahlem

Mit 42 Abbildungen

1961
PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 42 Heft 1 *S. 1—100 Berlin 1961*

Postverlagsort Berlin

INST
RAM
MYC

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL
8 AUG 1961

INHALT

Abhandlungen

VALENTA, V., M. MUSIL and S. MIŠIGA, Investigations on European Yellows-type Viruses. I. The Stolbur Virus. With 19 Figures 1

CORBAZ, R., Considérations sur l'épidémie de mildiou du tabac (*Peronospora tabacina* Adam) en Europe. Avec 2 figures 39

BERCKS, R., und J. BRANDES, Vergleichende serologische und elektronenmikroskopische Untersuchung des Weißkleemosaik-Virus, des Hydrangea ringspot virus und des Kartoffel-X-Virus. Mit 4 Abb. 45

MAASSEN, H., und MÁRIA NÉMETH, Das Bandmosaik der Erdbeere. Mit 2 Abb. 57

OPEL, H., H. WOLFFGANG und H. KEGLER, Untersuchungen über den Stoffwechsel viruskranker Pflanzen. II. Aktivitätsbestimmungen einiger Enzyme in Kotyledonen viruskranker Gurkenpflanzen. Mit 4 Abb. 62

SAUTHOFF, W., H. KRÖBER und R. MAATSCH, *Phytophthora cinnamomi* Rands als Krankheitserreger an *Erica gracilis* Salisb. Ein Beitrag zur Ätiologie und Bekämpfung des „*Erica*-Sterbens". Mit 11 Abb. 73

Besprechungen 100

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. GÄUMANN, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. KLINKOWSKI, Aschersleben, Theodor-Roemer-Weg 4, und Prof. Dr. H. RICHTER, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19. Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. RICHTER, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. RICHTER vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 30 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen), Mehrbedarf gegen Berechnung.

Vorbehalt aller Rechte, insbesondere auch der photomechanischen Vervielfältigung: Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe sind vorbehalten. Gewerblichen Unternehmen wird die Anfertigung einer photomechanischen Vervielfältigung von Beiträgen oder Beitragsteilen für den innerbetrieblichen Gebrauch durch Photokopie, Mikrokopie und dergleichen, nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens vom 14. 6. 1958, gegen Bezahlung der dort vorgesehenen Gebühr bis zu 3 Exemplaren gestattet. Die Vervielfältigungen haben einen Vermerk über die Quelle und den Vervielfältiger zu tragen. Die in dem Rahmenabkommen vorgesehene Gebühr ist an die Inkassostelle für Photokopiergebühren beim Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V., Frankfurt/M., Gr. Hirschgraben 17-19, zu entrichten. Erfolgt die Entrichtung der Gebühren durch Wertmarken der Inkassostelle, so ist für jedes Photokopierblatt eine Marke im Werte von DM 0,30 zu verwenden. Mit der Überlassung des Manuskriptes überträgt der Verfasser dem Verlag das Recht zu dieser Genehmigung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jedes Heft enthält etwa 7 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,75 DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang des letzten Heftes des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Verlag: Paul Parey, Berlin und Hamburg, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, Telefon 61 44 68/69.
Printed in Germany (Westberlin).

Abonnementspreis dieses Heftes 27,— DM **Einzelpreis 29,70 DM**

Institute of Virology, Czechoslovak Academy of Sciences, Bratislava

Investigations on European Yellows-type Viruses

I. The Stolbur Virus

By

V. Valenta, M. Musil and S. Mišiga

With 19 Figures

Contents: Introduction.. — Approach and Methods; a) Virus and plant nomenclature; b) Experimental procedures. — Acknowledgement. — The stolbur virus. — 1. Origin of the virus strains examined. — 2. Modes of transmission; a) Grafting; b) Dodder; c) Insect transmission. — 3. Host range and symptoms. — 4. Other properties. — Conclusions. — Summary. — Zusammenfassung. — Literature cited.

INTRODUCTION

In recent years increasing interest has been paid in Europe to plant viruses of the yellows type. The work of various authors in several countries has shown that 1) diseases of this type are far more widespread than hitherto was assumed and 2) several distinct viruses are concerned. Very often, however, the viruses reported have not been studied in sufficient detail nor in comparison with standard virus strains, or else conclusions concerning some of their properties have been based merely on a superficial similarity of disease symptoms without any experimental support. It is obvious, therefore, that many of the earlier reports cannot be correctly evaluated in view of more recent findings and that much confusion still exists regarding the yellows-type viruses occurring in Europe.

When we started our investigations several years ago in Czechoslovakia, one of our first aims was to demonstrate whether different yellows-type viruses occur in this area, and if so, to discover what criteria may be used for their differentiation. This work was later expanded to include also viruses other than of Czechoslovak origin.

We soon realized that to obtain reproducible results it would be necessary to have a representative collection of standard virus strains. We, therefore, collected a considerable number of virus cultures not only from Czechoslovakia, but also from other European countries and from Canada. This made possible comparative investigations on a sufficiently broad basis

which led to a more precise characterisation of what now could be called the "classical" stolbur virus and to the establishment of previously unknown entities, namely the Crimean yellows (VALENTA 1958 a), parastolbur and metastolbur (VALENTA 1959 a) viruses, and different strains (types) of the clover phyllody (MIŠIGA, MUSIL and VALENTA 1960) and potato witches' broom (VALENTA 1958 b) viruses.

The aim of the present series of papers is to give a more precise characterisation of these viruses than was possible in the preliminary publications just mentioned. The following subjects will be considered with each virus:

a) Modes of transmission

b) Host range and symptoms

c) Other properties.

These data will be finally summarised in a description giving the most essential characteristics of each virus, which will be designated by a Latin binomial, together with information on its geographical distribution.

APPROACH AND METHODS

a) Virus and plant nomenclature

Designation of viruses

The viruses under consideration have an almost identical known host range and several of them are transmitted at least by one and possibly by several other leafhopper species as common vectors. They are presently differentiated almost exclusively because they react differently in some of the host plants they share in common. Other more reliable properties are still for the most part unknown.

We are aware that criteria based on pathogenicity or symptomatology as such are not sufficient to distinguish virus species or variants of a single species. Thus the different names are suggested largely for convenience and this does not necessarily imply that each entity is considered finally to be a distinct virus species. It is to hope that future investigations into the basic properties of these viruses will reveal their actual taxonomic rank, interrelationships and relationships with viruses causing similar diseases outside Europe.

To avoid possible misunderstanding, some explanations of the terms used follow:

a) Strain is a designation used for any virus culture obtained from a different source. This corresponds with the designation "isolate" often used in plant virus literature (cf. VALENTA 1959 b). Of the many strains isolated hardly any two were found to behave in an absolutely identical manner.

Strains differing from one another only in virulence (severity of symptoms) will not be given specific designations. A combination of four symbols will be used for the labelling of strains, e. g. "S/Czechoslovakia 5/55". The first is an abbreviation of the respective virus (S = stolbur, etc.), the second indicates the country of origin, the third the current number of isolation in the respective year and the fourth symbol the year of isolation (55, 56 etc. = 1955, 1956 etc.) if known and if not known, the year in which the strain was obtained in our collection.

b) Variants of a virus, i. e. groups of strains differing from other groups only by symptoms in some hosts, but producing an overall similar syndrome in the majority of test plants, will be termed virus types and designated by either letters or numerals or a combination of the two.

c) Specific names (common and Latin) will be given to groups of strains (or types) differing from other groups by 1) any intrinsic properties other than pathogenicity (e. g. heat resistance, virus — vector relationship etc.), if known, and 2) the overall character of disease symptoms in selected differential host plants (e. g. presence or absence of phyllody in flowers, premature wilting, general flavescence etc.).

Although there are various and often adverse opinions concerning the use of Latin binomials for viruses, we think that, to avoid further confusion, some international designation is necessary. Thus the viruses to be described will be grouped in the genus *Leptomotropus* Ryzhkov (*Chlorogenus* Holmes). However, no attempt will be made to class the European viruses with the existing species of this genus described from America, Australia or Asia [e. g. *L. (C.) callistephi, L. (C.) lycopersici* etc.]. We consider that this would not yet be justified although the possibility should not be excluded that the whole group of the yellows-type viruses in the restricted sense, irrespective of where they occur, might actually represent only one or perhaps a very few species composed of a considerable number of variants.

Plant nomenclature

The plant material used was obtained from different places, often wrongly named, especially from some botanical gardens. Where possible, re-determinations were made through the available taxonomic literature and we hope that misdeterminations on the whole have been avoided. The nomenclature adopted in the present paper is, in general, that used by Dostál (1954: especially wild plants), Danert (1954, 1955: genus *Datura*), Brezhnev (1958: solanaceous vegetables) and Hawkes (1956: tuber-bearing *Solanum* spp.).

b) Experimental procedures

Isolation and maintenance of viruses

Viruses were isolated by either of the following methods: a) by transmission (using grafts, dodder or leafhopper vectors) from naturally diseased

plants of various species, showing obvious or suspect symptoms of disease in the field, and b) by allowing leafhoppers collected in habitats infested with yellows-type viruses to feed on appropriate test plants.

The viruses thus obtained were maintained either by consecutive graft-infection of susceptible hosts or, less usually, in cultures of infective leafhoppers.

Some viruses were kindly supplied by other workers.

Methods of virus transmission

It is generally assumed that the yellows-type viruses are not sap transmissible and this was not refuted by the results of experiments done early in our investigations. No infection resulted when sap from infected plants, even with the addition of reducing agents, was inoculated by the usual methods into leaves of susceptible plants. No further attempt, therefore, was made during later work to effect mechanical transmission. Three other methods were used:

a) Grafting. As a rule, diseased scions were grafted on healthy stock. The opposite arrangement was used in some special experiments. Grafting was used for transmitting viruses between plant species belonging to the same family: a few attempts to effect grafts between plants of different families failed completely.

b) Dodder was used in several experiments to transmit viruses usually between unrelated species. Previously noninfective dodder (for the most part *Cuscuta campestris* Yunck. and *C. subinclusa* Dur. et Hilg., less often *C. europaea* L. and *C. trifolii* Bab. et Gibs.) was allowed to grow on diseased plants for at least about 3 weeks and individual shoots were then transferred to the test plants.

c) Leafhoppers. Most of the experiments were done with the following species: *Euscelis plebejus* (Fall.), *Aphrodes bicinctus* (Schrk.) and *Macrosteles laevis* (Rib.) belonging to the family *Jassidae,* and *Hyalesthes obsoletus* Sign. belonging to *Cixiidae.*

The insects were caught in the field and, except for *H. obsoletus* which is very short-lived, were then tested on appropriate plants for freedom from virus; only initially virus-free colonies were used for the tests proper. A virus-free laboratory culture of *E. plebejus* was established and most experiments with this species were done from it.

The methods of transmission varied in individual experiments and will be described in the appropriate sections.

Test plants

Healthy seedlings were used throughout, except the following species, of which seedlings and/or vegetatively propagated material were used: *Trifolium repens* L., *Vinca rosea* L., *Cyphomandra betacea* Sendt. and tuber-bearing *Solanum* spp.

The plants were grown in steamed soil in clay pots under normal greenhouse conditions. Strict environmental control was effected only in the case of grafted plants which were kept for about one week after grafting in a humid chamber at a controlled temperature (25 ± 2 °C). Although the greenhouses were practically insect-proof occasional infestation with white flies and red spiders could not be prevented. As a regular measure, the experimental plants were sprayed once weekly with commercial insecticides (organophosphorous and nicotine compounds). A considerable number of healthy plants were kept as control in the greenhouses for the whole period of observation. Some contamination with mosaic viruses could not be fully prevented, as the latter were repeatedly introduced when isolating virus from field plants with a mixed infection. However, this could not have perceptibly influenced our experiments.

Evaluation of experiments

The test plants were observed for periods ranging from a few weeks to several months after inoculation, depending on the mode of transmission used. Usually some plants were kept for fome further weeks after symptoms had developed until the full symptom expression was completed or the plants had died.

Positive transmissions were evaluated according to the development of disease symptoms or, in the case of symptomless carriers, according to the results of reisolation tests on plants known to react with definite symptoms. Evidence that the symptoms of disease observed in the test plants were caused by the virus under consideration was obtained in two different ways: 1) by repeating the experiment with the same or equivalent virus strains several times on a sufficient number of plants with similar results, and 2) by back transference of virus wherever possible. This last way, offering unequivocal results was, however, not practicable in every case for reasons which will not be analysed here.

In view of the fact that the character of disease symptoms may be greatly influenced by seasonal and other variations in the environment, including genetic variability and age of test plants, parallel investigations with several virus strains were usually carried out at the same time, with the same plant material. In addition, the experiments were repeated with some hosts at different times of the year so as to obtain better information on symptom variability.

Acknowledgement

We should like to express our thanks to all those who contributed to our investigations by kindly supplying virus and/or plant material and who are too numerous for individual mention. Thanks are also due to Mrs. J. Beaufortová and Miss M. Augustinová for their technical assistance. We are also greatly indebted to Mr. J. M. Todd for revision of the English and helpful suggestions.

THE STOLBUR VIRUS

The transmissible character of the stolbur disease of tomatoes was first demonstrated by RISCHKOW, KORACHEVSKY and MICHAILOVA (1933) who named the causative agent "fruit woodiness" virus. Somewhat earlier in the same year KOSTOFF (1933 a) reported successful transmissions by grafting of the so-called "female sterility" virus of tobacco, now known to be identical with the stolbur virus.

It is not our aim to discuss here all the data on the various aspects of the stolbur problem which have accumulated since the publication of these first reports. Results of experimental work will be taken into account in appropriate places below. Field studies are beyond the scope of the present paper but the older work has been satisfactorily reviewed by SUKHOV and VOVK (1949), KLINKOWSKI (1958) and others. A complete bibliography on stolbur will be published elsewhere.

The name stolbur appears in the literature in several combinations. "South stolbur" or "stolbur of the *Solanaceae*" (= stolbur paslyonovykh in Russian) have been used, at least in the majority of cases, to designate a disease actually caused by stolbur virus in the present sense. The use of these combined names appears unnecessary and may be misleading regarding the geographical distribution and host range of the virus (cf. VALENTA 1958 c).

On the other hand, the following combinations designate virus entities not identical with the stolbur virus:

"North stolbur", originally proposed in 1945 by SUKHOV and VOVK (cf. SUKHOV and VOVK 1949, p. 87), may be considered synonymous with the East European types of the potato witches' broom virus (cf. SUKHOV and RAZVIAZKINA 1955, p. 199; also VALENTA 1958 c).

"Pseudoclassic" stolbur (BLATTNÝ 1958 and other publications by this author) represents an entity which cannot be definitely identified with any of those suggested by us (stolbur, parastolbur, metastolbur, clover phyllody etc.).

The so-called pseudostolbur, proposed by PONER (KORACHEVSKY 1941, p. 262) is merely a physiological disorder of tomatoes manifested by anthocyanotic discoloration of reduced leaves, hypertrophy of the calyx and reduction of the inner floral whorls.

In the following accounts viruses other than stolbur were involved:

Stolbur virus, strain "H", isolated from tobacco (VALENTA 1955, pp. 14—15, fig. 23) was most probably a strain of the Czechoslovak potato witches' broom virus (cf. VALENTA 1958 b).

Stolbur virus strains used by MUSIL and VALENTA (1958, Table 1, experiments 6 and 7) and MUSIL (1959) were later recognized to differ from the typical stolbur virus and classed with the clover dwarf virus (MUSIL 1960).

1. Origin of the virus strains examined

The following stolbur virus strains were used in the present investigations:

Czechoslovak strains

„1/55", „2/55", „3/55", „5/55", „1/56", „2/56" and „3/56": obtained in 1955 and 1956, respectively, from *Hyalesthes obsoletus* Sign. collected as larval instars on naturally diseased *Convolvulus arvensis* L. plants in Slovakia and kept in the laboratory until hatched on infected plants of the same species.

„6/55", „7/55", „9/55" and „11/55": obtained in 1955 from individual naturally infective adults of *Hyalesthes obsoletus* Sign. collected in the field in southwest Slovakia.

„13/55" and „16/55": obtained in 1955 from naturally diseased potato (*Solanum tuberosum* L.) plants in east and central Slovakia, respectively.

„14/55": obtained in 1955 by dodder transmission from a naturally diseased *Convolvulus arvensis* plant in southwest Slovakia.

„15/55" and „8/56": obtained in 1955 and 1956, respectively, from naturally diseased *Solanum nigrum* L. plants in southwest Slovakia.

„5/56": obtained in 1956 from a naturally diseased *Datura stramonium* L. plant in east Slovakia.

„6/56" and „7/56": obtained in 1956 from naturally diseased tomato plants in southwest Slovakia.

„1/57": obtained in 1957 by means of *Aphrodes bicinctus* (Schrk.) from a naturally diseased *Concolvulus arvensis* plant in southwest Slovakia.

„4/58": obtained in 1958 from a naturally diseased potato plant in southwest Slovakia.

Four additional strains: (S?) „4/55", (S?) „10/56", (S?) „11/56" and (S?) „14/56" were transmitted by grafting from naturally diseased *Convolvulus arvensis* plants in southwest Slovakia to other *Convolvulaceae*. They were lost before an accurate determination was possible, but are included here for completeness.

Bulgarian strains

„1/56": obtained in 1956 from a naturally diseased *Datura stramonium* plant growing on the shore of the Black Sea at Nesebr.

„2/56": obtained in 1956 from a naturally diseased tomato plant in the town Stanke Dimitrov (western Bulgaria).

Rumanian strain

„1/57": obtained in 1957 from a naturally diseased potato plant at Bucharest (brought to our laboratory by our former collaborator J. Závada).

Swiss strain

„1/53": originally isolated in 1953 by Bovey (1956) in Switzerland (Marcelin-sur-Morges). Kindly supplied in December, 1959 by Prof. Dr. B. Rademacher, Stuttgart-Hohenheim (Germany).

All but the Swiss strain were isolated in our laboratory. In addition to those mentioned above, a number of other strains were examined in a limited range of hosts. A complete list will be published elsewhere.

2. Modes of transmission

a) Grafting

This has been widely used and it seems unnecessary either to list here all the many references on this subject or to give a detailed account of our own experiments.

As a rule, stolbur virus is easily transmissible by grafting between members of the same plant species or genus, provided of course that grafting is possible between the plants tested. Thus good results were obtained between plants of the same or different species belonging to the following genera: *Trifolium, Convolvulus, Pharbitis, Vinca* and many in the *Solanaceae.* Usually, too, difficulties were not encountered in transmitting the virus between plants belonging to different genera within one family, e. g. *Convolvulaceae* or *Solanaceae.*

The results did not seem to be influenced by the arrangement of the grafts, i. e. they were similar irrespective of whether the scion or stock were infective. However the latter arrangement was used only exceptionally.

The transmission rate amounted usually to 100 %, provided that a good union between stock and scion had been established. There were, however, some exceptions. For instance somewhat erratic results were obtained with *Nicandra physaloides*, potato and some other plants (VALENTA 1961).

Although it is not absolutely necessary for the scions containing the virus to remain alive until the development of symptoms in the stocks, a tissue union between stock and scion must occur before virus transmission can take place. In experiments in which the scions were removed from the stocks at daily intervals, it was found that 7 days of contact was the shortest period necessary to allow passage of virus into the stock (VALENTA 1958 e). During this period a tissue union had already been established.

In general, the physiological state of the virus infected scions was of greater importance than their character for establishing a good graft union and subsequent transfer of virus. As a rule, freshly infected shoots gave better results than shoots taken from plants infected for long periods. On the other hand it did not matter whether parts of shoots or merely leaves (e. g. in tomatoes) were used as scions.

Occasional transmissions also resulted when mere fragments of infected tobacco or tomato tissue were implanted into stems of healthy plants of these species (LEŠKOVÁ, experiments still in progress). However, as distinct from BLATTNÝ and LIMBERK (1956) we did not obtain any transmission of virus when tissue from diseased *Convolvulus arvensis* was implanted into tomato or tobacco plants. In the graft transmissions reported by BLATTNÝ (1958, 1959 etc.) the so-called "pseudoclassic" stolbur was involved (cf. above).

To summarise, graft transmission of the stolbur virus proved to be easy between members of any one family, and only exceptional if at all between members of different families.

b) Dodder

The first published report on dodder transmission of stolbur virus is that by KOVACHEVSKI (1956). At about the same time positive results were obtained by SZIRMAI (1958) and negative results by BOVEY (1956). The bulk

of own experimental data has already been reported (MIŠIGA and VALENTA 1957). From the results so far obtained, which are summarised in Tables 1 and 2, the following conclusions can be made:

Table 1

Transmission of the stolbur virus by means of dodder

Dodder species	Virus source	Transmitted to				
		Trifolium hybridum	*Trifolium repens*	*Vinca rosea*	*Lycopersicon esculentum*	*Nicotiana tabacum*
campestris	*Convolvulus arvensis*	+	—	—	+	—
	Lycopersicon esculentum	—	—	+	—	+
	Nicotiana tabacum	—	—	—	+	+
	Vinca rosea	—	—	+	+	—
trifolii	*Lycopersicon esculentum*	—	+	—	+	+
	Nicotiana tabacum	—	+	+	—	—
epilinum	*Nicotiana tabacum*	—	+	—	—	—

— Not done or results negative.

Table 2

Persistence of the stolbur virus in the dodder, *Cuscuta trifolii* Bab. et Gibs.

C. trifolii (healthy)
↓ 3. VIII. 1956
Lycopersicon esculentum
(infected, source of virus — strain S/Čs 9/55)
↓ 11. IX. 1956
Trifolium repens 1/5*)
↓ 11. IV. 1957
Lycopersicon esculentum 0/1
↓ 13. V. 1957
Lycopersicon esculentum 0/1
↓ 4. VI. 1957
Lycopersicon esculentum 2/3

*) Numerator: number of plants infected; denominator: number of plants tested.

All three dodder species worked with, namely, *Cuscuta campestris, C. epilinum* and *C. trifolii* can transmit stolbur virus. Transmissions were obtained from stolbur infected *Convolvulus arvensis, Vinca rosea* and various solanaceous plants to members of *Fabaceae, Apocynaceae* and *Solanaceae.* KOVACHEVSKI (1956) obtained transmissions also to *Daucaceae.* Regarding the ability of dodder to transmit it seemed that the source of virus was unimportant; however, considerable differences were observed in

the relative susceptibility of plants to which transmission by dodder was attempted. The most susceptible was *Vinca rosea*, as it has also proved to be with all the other European yellows-type viruses so far examined. The transmission rate with *V. rosea* plants was almost 100 %. By contrast, no infections resulted in species belonging to *Asteraceae*. With the other species examined, the results were variable, the transmission rate usually being not higher than about 10 %.

It is difficult to account for the generally low transmission rate of stolbur virus in the dodder experiments. It can be hardly explained with reference to the virus — dodder relationship because, as evidenced by the results with periwinkle, virus must have been regularly present in the dodder shoots used. However, it is possible that stolbur virus concentration in dodder remains low, because the incubation periods registered have usually been extremely long.

c) Insect transmission

The leafhopper *Hyalesthes obsoletus* Sign. was established by SUKHOV and VOVK in 1945 (SUKHOV and VOVK 1946) as the first known vector of the stolbur virus. This was subsequently confirmed several times in the U. S. S. R (SUKHOV and VOVK 1949, GOLDIN and PARIEVSKAYA 1950, RAZVIAZKINA 1950, 1957 etc.) as well as in other countries: Bulgaria (KOVACHEVSKI 1958), Czechoslovakia (BLATTNÝ et al. 1954 etc.), Rumania (SĂVULESCU and POP 1956) and Yugoslavia (PANJAN 1958).

A closely related species, *Hyalesthes mlokosiewiczii* Sign., has been reported to be a vector of the virus in the Georgian S. S. R. (SAMUNDZHEVA 1949).

In 1953 BRČÁK (BRČÁK 1954, BLATTNÝ et al. 1954) obtained transmissions of what he considered stolbur virus by means of *Aphrodes bicinctus* (Schrk.). This has been confirmed by MUSIL and VALENTA (1958).

A summary of own experiments follows:

Hyalesthes obsoletus Sign.

In experiments carried out with this species it was possible to transmit the stolbur virus to some *Solanaceae*, *Daucaceae* and *Asteraceae*. The results are summarised in Table 3; included are data from experiments already published (VALENTA and MUSIL 1956, VALENTA 1956 b) and from some additional tests done in 1956. Further investigations on *H. obsoletus* had to be discontinued because it was no longer available in sufficient numbers.

We assume that in most instances transmission had taken place by naturally infective insects, which had acquired the virus in nature by feeding on diseased *Convolvulus arvensis* plants. Only a minority could have acquired the virus in the experiments proper. Thus it was impossible to determine the incubation period of the stolbur virus in this vector.

Aphrodes bicinctus (Schrk.)

Table 3

Transmission of the stolbur virus
by means of *Hyalesthes obsoletus* Sign., *Aphrodes bicinctus* (Schrk.) and *Euscelis plebejus* (Fallen) leafhoppers

Transmitted to	*H. obsoletus*	*A. bicinctus*	*E. plebejus*
Trifolium hybridum	—	+	+
T. repens	—	+	+
Apium graveolens	+	—	—
Daucus carota	+	—	—
Convolvulus arvensis	+	—	-
C. undulatus	+	—	—
Pharbitis purpurea	+	—	—
Vinca rosea	—	—	+
Lycopersicon esculentum	+	—	--
Nicotiana tabacum	+	—	—
Solanum nigrum	+	—	—
S. tuberosum	+	—	—
Callistephus chinensis	+	+	—
Senecio vulgaris	—	—	+

— Not done or results negative.

Transmissions were obtained with two virus strains (Musil and Valenta 1958, Musil 1960). The strain "S/Czechoslovakia 9/55" was transmitted from an experimentally infected tomato plant and strain "S/Czechoslovakia 1/57" from a naturally diseased *Convolvulus arvensis* plant to *Trifolium hybridum, T. repens* and *Callistephus chinensis* (cf. Table 3).

Euscelis plebejus (Fallen)

Clover plants infected with the Czechoslovak strains "9/55" and "1/57" in the experiments with *A. bicinctus* just mentioned were used as virus source plants. Transmissions by *E. plebejus* were obtained to *Trifolium hybridum, T. repens* and *Senecio vulgaris* with both virus strains, and to *Vinca rosea* plants with strain "1/57".

Macrosteles laevis (Rib.)

In preliminary experiments with this leafhopper species, done in 1960, the Czechoslovak strain "9/55" was transmitted from infected to healthy *Trifolium repens* plants. In previous reports on stolbur virus transmissions by *M. laevis* (Valenta 1958 e, Musil and Valenta 1958) the clover dwarf virus was involved (cf. above).

In view of the low and variable transmission rates in our experiments so far it is difficult to make any definite conclusions on virus — vector relationships and on the susceptibility of different plant species to infection by vectors. It is also hardly possible to compare the efficiency of the 4 leafhopper species studied in transmitting the virus.

The incubation period of stolbur virus in the vector lasted about 1—2 months and 1 month respectively for *A. bicinctus* and *E. plebejus*. This is in

sharp contrast to the data reported by RAZVIAZKINA (1950) for *Hyalesthes obsoletus*. She claimed an incubation period of only 2—7 days. Such short periods were also obtained in our experiments with *H. obsoletus* but the possibility could not be excluded that the insects had acquired the virus in nature before used in the experiments.

3. Host range and symptoms

The list of host plants and the description of disease symptoms given below are based mainly on the results of our own experiments, but data from the literature are also taken into account, in so far as they were based on experimental transmissions.

A survey of plant species infected with stolbur virus in our experiments is given in Tables 4 and 5, in which also transmissions obtained with some selected strains are summarised. These strains will not be specified in the enumeration of hosts, which follows. Where, however, a plant species was infected in the experiments by additional strains, this will be indicated in parenthesis after the respective plant name. In the following enumeration of hosts the genera and species are arranged alphabetically under their appropriate families. Species not important as differential hosts are presented in smaller type.

Table 4

Host ranges of some stolbur virus strains
which were transmitted to (or isolated from) plant species other than *Solanaceae*

Plant species	Czechoslovak strains									
	1/55	2/55	3/55	5/55	9/55	14/55	1/56	2/56	1/57	(S?)[1]
Faba vulgaris					+					
Trifolium hybridum					+				+	
T. repens				+	+				+	
Apium graveolens	+	+	+				+			
Daucus carota		+	+							
Convolvulus arvensis						+	+	+	+	+
C. tricolor										+
C. undulatus								+		
Pharbitis hederacea										+
P. purpurea							+			+
Vinca rosea	+				+				+	
Solanaceae	+[2]	+[3]		+	+	+				
Callistephus chinensis	+		+		+					
Senecio vulgaris					+					

[1] Not definitely determined strains isolated from *Convolvulus arvensis* (cf. p. 7).
[2] *Lycopersicon esculentum* and *Nicotiana tabacum* only.
[3] *Solanum tuberosum* only.

Table 5

Transmission of some selected stolbur virus strains to solanaceous plant species

Plant species	S/Czechoslov. 9/55	S/Czechoslov. 5/55	S/Czechoslov. 5/56	S/Czechoslov. 14/55	S/Czechoslov. 8/56	S/Bulgaria 1/56	S/Bulgaria 2/56	S/Rumania 1/57	S/Switzerland 1/53
Atropa belladonna	+	+	+	+	+				
Browallia viscosa		+		+					
Capsicum annuum	+	+	+	+			+		
Cyphomandra betacea	+	+			+				
Datura ferox			+						
D. innoxia	+								
D. meteloides	+								
D. stramonium	+	+	+	+	+	+	+	+	
Hyoscyamus albus	+			+					
H. niger	+								
Lycopersicon esculentum	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L. hirsutum	+	+	+	+	+	+	+		
Nicandra physaloides				+			+		
Nicotiana alata	+	+	+	+					
N. glauca	+	+		+				+	+
N. glutinosa	+								
N. longiflora		+		+					
N. rustica	+	+	+	+	+	+	+	+	+
N. tabacum	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Petunia hybrida	+	+	+						
Physalis alkekengi	+								
P. franchettii	+				+				
P. pubescens	+	+	+	+					
Salpiglossis sinuata		+							
Schizanthus pinnatus	+	+							
Solanum acaule					+				
S. armatum	+								
S. bonariense	+								
S. chacoense	+								
S. demissum	+				+				
S. dulcamara		+							
S. melongena	+	+	+						
S. nigrum	+	+	+		+				
S. phureja	+								
S. pseudocapsicum	+								
S. tuberosum	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Fabaceae

Faba vulgaris Moench. Apical internodes somewhat shortened, the leaves slightly reduced und flavescent. Flowers not formed.

Trifolium hybridum L. (3 strains). Symptoms usually slight. Plants reduced in all parts, showing some proliferation of axillary buds. Leaves flavescent to anthocyanotic. Flowers almost normal, never virescent. First reported by MIŠIGA and VALENTA (1957).

Trifolium repens L. (4 strains). Plants reduced in all parts, flavescent, but symptoms often very inconspicuous. Flowers almost normal, but sterile, never virescent. Occasionally more severe symptoms are produced, characterised by a more marked reduction of leaves, which are anthocyanotic (Fig. 1). First reported by MIŠIGA and VALENTA (1957).

Fig. 1. *Trifolium repens* L.: healthy (right) and infected with strain „S/Čs 1/57" (left)

Daucaceae

Apium graveolens L. Petioles of outer (older) leaves becoming longer and prostrate with leaflets rolled and anthocyanotic. The inner (younger) leaves markedly reduced, malformed, with flavescent margins. Infected plants die early, before attaining the flowering stage (cf. VALENTA 1956 b). Essentially the same symptoms were also observed in the field in southern Slovakia, sometimes accompanied by additional signs (flowering in the first year, virescence of flowers etc.) which, however, cannot with certainty be attributed to stolbur infection. Dodder transmission to celery plants of what can be taken for stolbur virus in the present sense was reported by KOVACHEVSKI (1956).

Daucus carota L. ssp. *sativus* Hay. Symptoms similar to those shown by *Apium graveolens*. The susceptibility of carrot to stolbur virus was first claimed by SUKHOV and VOVK (1946), but was not supported by experimental evidence until that of VALENTA (1956 b).

Fig. 2. *Vinca rosea* L.: infected with strains „S/Čs 9/55" and „S/Čs 1/55" (left and right, respectively; the differences in symptoms seen in the photographs are not strain specific; they only illustrate various stages of disease)

Apocynaceae

Vinca rosea L. Infected plants show slightly increased branching and the apical internodes are slightly shortened. Leaf symptoms hardly discernible, but some transient flavescence. Flowers virescent or in various stages of phyllody and antholysis (Fig. 2, 3) (cf. MIŠIGA and VALENTA 1957).

Convolvulaceae

Convolvulus arvensis L. The symptoms of natural infection change with time. At first there is phyllody of the calyx and abortion of the inner floral whorls (Fig. 4 a), then the main axes become distorted (Fig. 4 b) and the apical internodes shortened. Later stages of disease are characterised by a dwarfed, bushy and vertical habit of growth and reduction and slight malformation of leaves which can be flavescent or anthocyanotic (Fig. 5). Virescent flowers may be either present and then reduced, or absent. The plants infected

Fig. 3. *Vinca rosea* L.: a single flower showing progressed phyllody and antholysis (strain „S/Čs 1/55")

by means of *Hyalesthes obsoletus* (Table 4) showed essentially the same symptoms, but did not produce any flowers. Although stolbur virus was early suspected (RYZHKOV 1934), the aetiology of the disease in *C. arvensis* was confirmed experimentally much later (KHUDYNA in RYZHKOV 1946, SUKHOV and VOVK 1949).

Convolvulus tricolor L. (S? „11/56"). Marked dwarfing with proliferation of axillary shoots which remain short and bear reduced leaves; the latter are flavescent and subsequently show diffuse necrotic areas. Flowers not formed. Listed by VALENTA (1958 d).

Fig. 4. *Convolvulus arvensis* L.: early stages of natural infection. a) Phyllody of the calyx, b) distortion of a branch with apical internodes shortened; flowers reduced and virescent

Fig. 5. *Convolvulus arvensis* L.: naturally infected plant, showing bushy habit of growth and lack of flowers (progressed stage of disease)

Convolvulus undulatus. General dwarfing, reduction of leaves and virescence of flowers. Listed by VALENTA (1958 d).

Pharbitis hederacea Chois. (S? „4/55", „10/56" and „14/56"). Internodes shortened, proliferation of axillary buds into short shoots with reduced leaves, often malformed and flavescent. Flowers small, with a free virescent corolla.

Pharbitis purpurea (L.) Voigt (also S? „4/55", „10/56" and „14/56"). Plants usually dwarfed and profusely branched. Leaves gradually reduced, markedly flavescent, later with interveinal necrosis finally becoming a total necrosis, especially in leaves on the main axes. Flowers with varying stages of virescence or phyllody. First reported by VALENTA (1956 b).

Cuscutaceae

Cuscuta campestris Yunck., *C. epilinum* Whe. and *C. trifolii* Bab. et Gibs. These *Cuscuta* species are listed here as host plants of stolbur virus, although symptoms are not known. It is reasonable to assume that the stolbur virus actually multiplies in dodder and that the latter is not merely a bridge for virus transmissions as with some mosaic viruses. This assumption is based on analogy with the cranberry false blossom virus (COSTA 1944) and the Crimean yellows virus (VALENTA 1958 a) as well as on some results of own experiments, in which consecutive transfers were effectuated (Table 2). It seems unlikely that the stolbur virus would merely persist in dodder plants for such a long period as in these experiments without multiplying in them.

Solanaceae

Atropa belladonna L. (13 strains). Infected plants are more bushy than healthy ones and more or less stunted, the degree of stunting depending on the virulence of the virus strain. Slight proliferation of axillary buds into short shoots with reduced leaves. Leaves on the main shoots more or less reduced, with curled interveinal areas, often anthocyanotic. Flowers usually absent; if present (in less virulent strains), then markedly reduced with abortive internal whorls. Infected plants did not overwinter well (Fig. 6). Experimental transmissions to or from *A. belladonna* were reported by KORACHEVSKY (1936), PONER (1941), PANJAN (1950) and VALENTA (1958 d).

Fig. 6. *Atropa belladonna* L.: infected with a mild („S/Čs 9/55") and a severe strain („S/Čs 15/55") (left and right, respectively)

Browallia viscosa H. B. et Kth. (also „S/Čs 15/55"). Apical internodes shortened. Proliferation of axillary buds. Leaves gradually reduced, anthocyanotic, with margins somewhat flavescent and rolled. Infected plants died early.

Capsicum annuum L. Plants more or less stunted. Apical leaves reduced, somewhat flavescent, with interveinal curling. Flowers, if present, reduced, but not virescent. Later on infected plants started to wilt and died soon after. These symptoms closely resemble those seen in the field, where however they are usually more pronounced. Experimental transmissions to or from *C. annuum* of what can be considered stolbur virus in the present sense have been reported on several occasions (e. g. KORACHEVSKY and SEMENKOVA 1938, KORACHEVSKY 1941, SUKHOV and VOVK 1946, 1949, PANJAN 1950 etc.).

Cyphomandra betacea Sendt. (4 strains). Marked dwarfing and reduction of the apical leaves, these being at first flavescent and somewhat curled and later wilting rapidly. Occasionally proliferation of axillary buds. Infected plants died very soon (Fig. 7). Experimental infection of *C. betacea* was reported almost simultaneously by KOVACHEVSKI (1958) and VALENTA (1958 d).

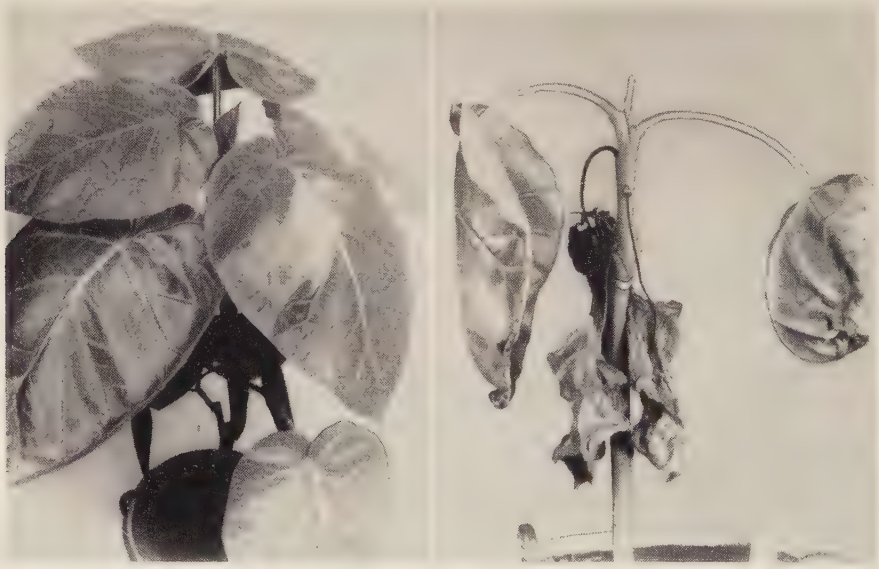

Fig. 7. *Cyphomandra betacea* Sendt.: healthy (left) and infected (right), showing wilting of leaves

Datura ferox L. Symptoms essentially the same as with *D. stramonium* (see below).

Datura gigantea was listed among plants to which what can be considered stolbur virus in the present sense was transmitted by PONER (1941). This species name was not found in the papers by DANERT (1954, 1955).

Datura innoxia Mill. With the relatively mild strain examined („S/Čs 9/55") the symptoms consisted of slight, transient flavescence of leaves and reduction almost to abortion of the flowers. Reported under erroneous species name (*Datura metel* L., cf. DANERT 1954) by VALENTA (1958 e).

Datura meteloides Dun. f. *wrightii* Danert (2 strains). Habit almost normal, leaves slightly to markedly reduced with flavescent and rolled margins, the severity depending on the virulence of the virus strain. Flowers not formed.

Datura stramonium L. (over 20 strains). The typical form (var. *stramonium*) and var. *tatula* (L.) Torr. were used, the symptoms being similar but varying considerably

depending on 1) the virulence of the virus strain and 2) the age of plants at which infection occurred. Habit either nearly normal or dwarfed with profuse branching. Leaves slightly to markedly reduced, showing inconspicuous to pronounced flavescence, especially of the leaf margins and interveinal areas, and more or less curled. Flowers either almost unchanged except for being sterile, or with markedly enlarged calyx, the inner whorls being reduced to aborted, or markedly reduced to absent (in later stages of disease). No typical flower proliferation (Fig. 8). Symptoms seen in the field were essentially the same as in the experiments. Transmission of what can be considered stolbur virus in the present sense from, or to *D. stramonium* were first reported by KORACHEVSKY (1936) and later by other authors (e. g. KORACHEVSKY and SEMENKOVA 1938, PONER 1941, VALENTA 1955, BOVEY 1956 etc.).

Fig. 8. *Datura stramonium* L.: infected (from left to right) with strains of low („S/Čs 9/55"), medium („S/Čs 7/56") and high („S/Čs 15/55") virulence

Hyoscyamus albus L. (5 strains). Slight dwarfing, leaves normal or slightly reduced, sometimes flavescent. Flowers with calyx usually enlarged, inflated or campanulate, the corolla reduced or sometimes virescent; pistils in various stages of phyllody or abortive. Listed by VALENTA (1958 d).

Hyoscyamus niger L. (6 strains). Symptoms essentially the same as with *H. albus* (cf. VALENTA 1958 d). SUKHOV and VOVK (1949) listed *H. niger* among plants naturally infected with stolbur virus, but experimental confirmation of this is lacking.

Lycopersicon esculentum Mill. (over 40 strains). Almost all the strains examined were tested on the cultivar „Champion", which yielded symptoms similar to those obtained in the cultivar „Bonny Best" used in a part of the tests. Somewhat different symptoms were observed in other cultivars included in some of the tests. Generally, the stolbur symptoms in *L. esculentum* are subject to considerable variation, depending not only on the inherent genetical properties of the host plants, but also on the properties of the virus strains themselves and on many external factors (temperature, light intensity etc.) (Figs. 9—11). With the more virulent strains and earlier infections the plants are usually severely stunted, the apical leaves being obviously reduced in size and shape, at first flavescent and later anthocyanotic. Axilary proliferation is frequent, but the shoots remain short und bear very small leaves. Such plants usually do not flower at all. If flowers exceptionally were formed, they were reduced in all parts. With the less virulent strains and later infections the plants are less severely stunted, if at all. Their leaves are reduced only a little but are flavescent and the anthocyanotic discoloration is less pronounced than with the virulent strains. The plants usually profusely branched, the shoots being not markedly stunted as distinct from what happens with the more virulent strains. The inflorescences are very upright and the flowers have usually enlarged calyces and reduced to aborted internal

whorls. Overall phyllody accompanied by antholysis is rather infrequent. The variability of symptoms is even more pronounced in the field, where it is also due, at least in part, to the frequent occurrence of mixed virus infections (stolbur plus different mosaics).

Fig. 9. *Lycopersicon esculentum* Mill.: different symptoms produced by strain „S/Čs 9/55" in different cultivars; a) „Champion", b) „Vitosha" (both var. *vulgare* Brezh.) and c) „Alpatieva" (var. *validum* [Bailey] Brezh.)

Fig. 10. *Lycopersicon esculentum* Mill. cultivar „Champion": severe stunting and suppression of flowering by strain „S/Čs 16/55" (a severe strain)

Experimental transmission of what can be considered stolbur virus in the present sense to or from tomato plants (including various taxonomic units, e. g. also *Solanum humboldtii* Willd.) were reported by a number of authors from several countries: Bulgaria (KOVACHEVSKI 1954, 1958), Czechoslovakia (BLATTNÝ et al. 1954 etc.), Hungary (SZIRMAI 1958), Italy (GRANCINI 1958), Rumania (SĂVULESCU and POP 1956), Switzerland (BOVEY 1956), USSR RYZHKOV, KORATSCHEVSKY and MICHAILOVA 1933 etc.) and Yugoslavia (PANJAN 1950).

Lycopersicon hirsutum Humb. et Bonpl. (8 strains). Intensity of symptoms rather variable, depending on strain virulence. Stunting more or less pronounced and some proliferation of axillary buds. Leaves slightly to markedly reduced with some general flavescence, followed later by pronounced anthocyanotic discoloration. Flowers not formed. The more severe strains caused early death of infected plants. Listed by VALENTA (1958 d).

Nicandra physaloides (L.) Gärtn. (4 strains). Habit almost normal with only some shortening of the apical internodes. Leaves usually reduced, markedly flavescent, with rolled margins and curled interveinal areas. Flowers with enlarged calyx and reduced corolla of normal colour; pistil aborted or on a short gynophore, malformed.

Fig. 11. *Lycopersicon esculentum* Mill. cultivar „Olomoucké nízké": phyllody caused by strain „S/Čs 9/55"

Nicotiana alata Link et Otto (5 strains). Several forms, including *N. sanderae* hort., were used with similar results. Most of the plants infected remained in the rosette stage and did not flower, their leaves being flavescent and reduced. The flowering plants were obviously stunted and the reduced flowers had a distinctly upright posture.

Nicotiana glauca Grah. This is a symptomless host, as already pointed out by KHUDYNA (1941). It is being used at present for maintaining stock virus cultures in our collection.

Nicotiana glutinosa L. (5 strains). Plants somewhat stunted with reduced and flavescent leaves. Flowers with reduced or abortive corolla, the calyx being in most cases almost normal, or, especially in basal flowers, enlarged; pistils usually aborted or malformed, and then on short gynophores. In some plants, the apical flowers proliferated into short vegetative shoots with small leaflets. Experimental infection with what can be considered stolbur virus in the present sense was reported by PONER (1941) and PANJAN (1950). Cf. also VALENTA (1958 d).

Nicotiana longiflora Cav. Plants remained in the rosette stage, their leaves being markedly reduced and flavescent.

Nicotiana rustica L. (over 20 strains). Several forms obtained from different places under different names were used. All behaved similarly and, therefore, no distinction is made between them in the following description of symptoms. Symptoms varied considerably as a result of differences in strain virulence and, to a lesser degree, of genetic inhomogeneity in the test plants. The most characteristic symptoms were a marked upright habit of growth, increased branching (the length of axillary shoots being variable) and slight flavescence of leaves, especially interveinally, becoming more pronounced with age, no vein clearing. Flowers mostly normal in shape, although sterile and usually smaller than normal. With the more virulent strains there was enlargement of the calyx, reduction or near abortion of the corolla and various stages of phyllody of the pistil (Fig. 12). Reported as host of stolbur virus as early as 1933 by KOSTOFF (1933 a). See also VALENTA (1958 d).

Nicotiana silvestris Speg. et Comes. Listed by BLATTNÝ et al. (1954) as susceptible to stolbur virus.

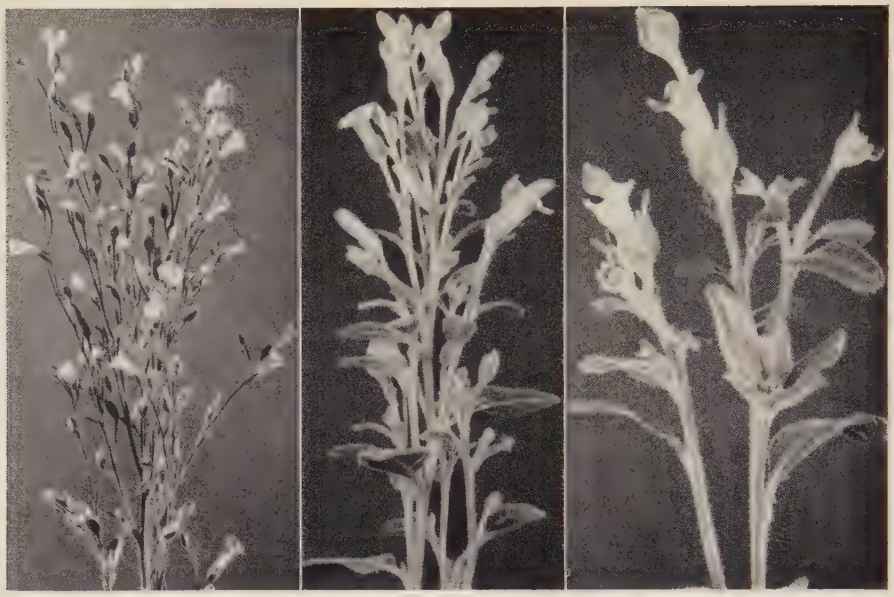

Fig. 12. *Nicotiana rustica* L.: infected (from left to right) with strains „S/Čs 13/55", „S/Čs 16/55" and „S/Čs 3/56", respectively

Nicotiana tabacum L. (over 20 strains). The cultivar "Samsun" was used throughout. Some additional cultivars included in a part of the experiments gave similar results. First signs of infection appear on the apical leaves, which with most strains become whitish, curled and markedly reduced in size (Fig. 13). Later symptoms vary depending on the strain

Fig. 13. *Nicotiana tabacum* L. cultivar „Samsun": young stage of infection with characteristic leaf changes; healthy control (left) and infected with strain „S/Čs 6/56" (right)

Fig. 14. *Nicotiana tabacum* L. cultivar „Samsun": progressed stage of infection (from left to right) with strains of low („S/Čs 6/55"), medium („S/Čs 7/55") and high (S/Čs 14/55") virulence

virulence (Fig. 14). Plants slightly to markedly dwarfed, older leaves showing flavescence followed by interveinal necrosis. Inflorescences stiff, often dense and dwarfed. Floral changes either only slight (general reduction of size, the shape and colour being almost normal, the stylet being shortened), or moderate to profound, including virescence and some phyllody, but proliferations being, as a rule, absent. With the most severe strains there may occassionally be some changes indicating the beginning of floral proliferation, namely, antholysis and phyllody of the pistil. True proliferations (Fig. 15) develop only exceptionally and only in a few flowers of the affected plants. Plants infected with the least virulent strains showed in winter some recovery lasting for limited periods, during which some normal fruit was set. Symptoms seen in the field are essentially the same as in experimentally infected to-

Fig. 15. *Nicotiana tabacum* L. cultivar „Samsun": flower changes following stolbur infection; a) longitudinal section of a flower from a plant infected with a mild virus strain, showing shortened stylet and the pistil sitting on a gynophore; healthy flower to the left; b) proliferation of some flowers, the majority only virescent without proliferations (the rather severe strain „S/Čs 6/56")

bacco plants. Experimental transmissions of what can be considered stolbur virus in the present sense to or from *N. tabacum* were first reported by KOSTOFF (1933 a) and later by a number of authors (KORACHEVSKV 1936, PONER 1941, PANJAN 1950, BOVEY 1956, GRANCINI 1958 etc.).

Petunia hybrida hort., cultivar „Rose of Heaven" (also „S/Čs 6/56"). Usually marked dwarfing with profuse branching, the lateral shoots being short and bearing reduced flavescent leaves. Flowers more or less reduced, with a partially or wholly virescent corolla. The intensity of symptoms varied considerably depending on the virulence of the virus strain. Although reported as susceptible to stolbur virus e. g. by SUKHOV and VOVK (1946) and KOVACHEVSKI (1958) it seems that our own work constitutes the first experimental evidence (VALENTA 1958 d).

Physalis alkekengi L. (3 strains). Plants stunted, sometimes with an increased number of basal shoots, showing proliferation of axillary buds into short branches with reduced leaves. The main leaves curled, flavescent to anthocyanotic. Flowers reduced, with aborted internal organs, the calyx being occasionally enlarged and inflated. Reported by VALENTA (1958 d).

Physalis angulata L. Listed by KOVACHEVSKI (1958) as susceptible to stolbur virus. Plants grown from seed obtained under this species name from Dr. KOVACHEVSKI proved to be *P. ixocarpa* Brot. In spite of repeated attempts we could not infect either the true *P. angulata*, or *P. ixocarpa* (cf. VALENTA 1961).

Physalis franchettii Mast. Symptoms essentially the same as in *P. alkekengi*. Flowers not formed.

Physalis peruviana L. Transmissions of what can be considered stolbur virus in the present sense to or from this species were reported respectively by KOVACHEVSKI (1958) and KORACHEVSKY and SEMENKOVA (1938). In our work repeated attempts to infect *P. peruviana* with stolbur and other yellows-type viruses consistently failed.

Physalis pubescens L. (5 strains). Some dwarfing, leaves reduced and flavescent. Flowers stiffly upright, reduced, virescent. The intensity of symptoms varied somewhat depending on the virulence of the virus strain.

Salpiglossis sinuata Ruiz et Pav. Plants dwarfed, profusely branched, but the axillary shoots remaining short. Leaves markedly reduced, flavescent. Flowers reduced, with abortive internal organs.

Schizanthus pinnatus Ruiz et Pav. (6 strains). Habit markedly upright and slightly to markedly stunted, depending on strain virulence. Some proliferation of axillary buds. Leaves reduced, flavescent and later anthocyanotic. Flowers either markedly reduced (with the more virulent strains) or showing some phyllody (with the less virulent strains). The infected plants died early. Reported by VALENTA (1958 d).

Solanum acaule Bitt. Apical leaves upright, reduced, anthocyanotic. The plants wilted and died prematurely. Flowers not formed. Listed as host of stolbur by SUKHOV and VOVK (1949).

Solanum armatum R. Br. Apical leaves reduced. Flowers gradually reduced, sterile.

Solanum bonariense L. Slight dwarfing and somewhat increased branching. Apical parts generally reduced and flavescent. Leaves reduced, rolled. Inflorescences upright, the somewhat reduced and sterile flowers remaining on the stalks. Reported by VALENTA (1958 d).

Solanum chacoense Bitt. Several forms, including a few obtained under wrong names were used with similar results. No distinction will be made, therefore, between them in the following description of symptoms. The early symptoms consist of an upright habit, increased branching and marked stunting of the tops. Leaves, especially the apical ones, reduced, flavescent and later anthocyanotic. Aerial axillary stolons appear fairly regularly. No flower changes. Later on there is wilting followed by death of the above-ground parts. The tubers, if formed, produced spindly sprouts from which, however, almost normal plants were obtained. Attempts at virus recovery from these plants were consistently negative.

Kovachesvki (1958) listed among plants susceptible to stolbur virus also *S. caldasii*. According to Hawkes (1956, p. 52 and 61) this most probably was *S. chacoense*.

Solanum demissum Lindl. Some proliferation of axillary buds. Apical leaves upright, with rolled leaflets, flavescent and later anthocyanotic. No flowers. The infected plants wilted and died prematurely without producing any tubers. This species was listed as susceptible to stolbur virus by Sukhov and Vovk (1949: symptoms only) and by Kovachevski (1958).

Solanum dulcamara L. Plants profusely branched, stunted. Leaves markedly reduced, as with the flowers. Experimental transmissions to this species of what can be considered stolbur virus in the present sense were reported by Poner (1941) and Kovachevski (1948).

Solanum framaetocarpum, S. gilo and *S. gracile*. Experimentally infected by Kovachevski (1958).

Fig. 16. *Solanum melongena* L.: infected (a and c, respectively) with strain „S/Čs 5/55" — cultivars „Crimskii 714" (phyllody of the calyx) and „Dlynnii fioletovii" (wilting); b: cultivar „Crimskii 714" infected with strain „S/Čs 5/56" (pronounced enlargement of the calyx)

Solanum melongena L. (5 strains). Two types of symptom occur (Fig. 16). The first is finally characterized by wilting and premature death of the plants; flower changes are inconspicuous or absent. In the second type there is no wilting, but a marked enlargement of the calyx occurs with abortion of the inner floral whorls. The first signs of disease are common to both types: an upright habit with slight proliferation of axillary buds into short shoots with some rolling of apical leaves. The first symptom type is far more common than the second as it occurs in most of the cultivated eggplant varieties. The following cultivars, kindly supplied by the All-Union Institute for Plant Industry, Leningrad, all reacted with the first symptom type: ssp. *orientale* Fil. var. *depressum* Bailey cultivars "Delicates" and "Maikopskii 15"; ssp. *occidentale* Haz. var. *europaeum* Fil. cultivar

"Dlynnii fioletovii" and ssp. *occidentale* Haz. var. *falcatum* Haz. cultivar "Shovgremanii 9". The second type of symptom was obtained in ssp. *occidentale* Haz. var. *bulgaricum* Fil. cultivar "Crimskii 714" only. This peculiar varietal reaction has already been reported by SUKHOV and VOVK (1946), under the former synonymous designation "Bolgarskii 7/14". The symptoms of stolbur infection in the field are essentially the same as those observed in the experiments. Experimental transmissions of what can be considered stolbur virus in the present sense was first reported by KORACHEVSKY and SEMENKOVA (1938) and later confirmed by several authors (PONER 1941, SUKHOV and VOVK 1946, VALENTA 1958 d etc.).

Solanum nigrum L. (7 strains). This species is considered here in the very broad sense suggested by FILOV (BREZHNEV 1958). Forms belonging to ssp. *europaeum* Fil. and ssp. *irano-algiricum* Fil. were used with similar results. No distinction will be made, therefore, between them in the following description of symptoms. Infected plants more branched than healthy ones, the lateral branches being short and the apical internodes stunted. Leaves gradually reduced in size as also with the flowers, which in the final stages of disease are only rudimentarily developed. These symptoms are essentially those of a natural infection. Experimental transmissions of what can be considered stolbur virus in the present sense from or to *S. nigrum* were reported by KORACHESVKY and SEMENKOVA (1938), KORACHEVSKY (1941), PONER (1941), VALENTA and MUSIL (1956), KOVACHEVSKI (1958) and others. There are two contradictory opinions regarding the susceptibility of the so-called *Solanum ochroleucum:* PANJAN (1950, 1958) obtained no infection, whereas KOVACHEVSKI (1958) did. Seeds were obtained from both authorities and plants of either origin proved susceptible in our tests. However, it was found that the plant Dr. PANJAN had worked with actually was *S. villosum* Lam., classed here as var. *villosum* L. of the *S. nigrum* L. ssp. *irano-algiricum* Fil. „*S. ochroleucum*" obtained from Dr. KOVACHESVKI was merely a pale-berried variety of the common ssp. *europaeum* Fil., most probably its var. *leucocarpum* Schwarz (= var. *ochroleucum* Coss. et Germ.).

Solanum nodiflorum Jacq. Experimentally infected by KOVACHESVKI (1958).

Solanum phureja Juz. et Buk. Plants anthocyanotic, somewhat more branched than normal. The principal stems produce at the base aerial stolons the apices of which are occasionally enlarged, representing tuber-like organs with tiny leaflets. True tubers were not formed.

Solanum pseudocapsicum L. The symptoms varied considerably, from almost symptomless to rather bushy and dwarfed plants. In the latter the leaves were markedly reduced. Flowers were formed only rarely and were reduced and sterile. Reported as susceptible almost simultaneously by KOVACHEVSKI (1958) and VALENTA (1958 d).

Solanum sisymbrifolium Lam. Listed as susceptible by KOVACHEVSKI (1958).

Solanum tuberosum L. (18 strains). The USDA seedling „41 956" and plants obtained from seed of local varieties were used with similar results. The first symptoms consist of the plants assuming a vertical habit of growth with some rolling and marginal flavescence of the apical leaves. Subsequently shortened and thickened shoots, aerial tubers, aerial stolons of different shapes, or any combination of these three organs may develop in the leaf axils. This is usually followed by wilting and rapid death of the aboveground parts. Not infrequently, however, the symptoms are very inconspicuous and there is no wilting (Fig. 17). The experimentally inoculated plants produced either no tubers, or, if present, the tubers were small, sometimes flaccid and produced spindly sprouts. Plants developing from these sprouts were usually dwarfed with tiny shoots bearing small, reduced, often simple leaflets. Sometimes, however, almost normal-seeming plants developed in the year after infection. No evidence of tuber transmission of the stolbur virus was ever obtained in our experiments. The symptoms of disease in the field are essentially similar to those obtained in the experiments, but are even more variable. Experimental transmission of

what can be considered stolbur virus in the present sense to or from potato plants has been reported on several occasions by authors from several countries, e. g. Bulgaria (Kovachevski 1954), Czechoslovakia (Blattný et al. 1954 etc.), Rumania (Săvulescu and Pop 1956), Switzerland (Bovey 1956), U. S. S. R. (Poner 1941, Sukhov and Vovk 1946 etc.) and Yugoslavia (Panjan 1950).

Fig. 17. *Solanum tuberosum* L.: seedlings infected with strains „S/Čs 9/55" and „S/Čs 8/56" (a and c, respectively); b: „USDA 41 956" grafted on a tomato plant infected with strain „S/Čs 11/55"; a cluster of aerial tubers developed at the bottom of the scion

Asteraceae

Callistephus chinensis Nees. Habit markedly upright, more branched than normal, somewhat stunted. Apical leaves reduced, with transient clearing of the veins, followed by a general flavescence. Inflorescences slightly reduced, the individual flowers showing some virescence (Fig. 18). Some of the affected plants showed signs of recovery (Fig. 19), their flowers being almost normal, but smaller and sterile. (cf: Valenta 1956 b). Similar symptoms were obtained by Sukhov and Vovk (1946, 1949) in asters infected by means of *Hyalesthes obsoletus* Sign. The authors claim that there was also wilting of the plants, but this was not seen in our experiments.

Senecio vulgaris L. Vertical habit of growth with some proliferation of axillary buds into short shoots with small leaves showing faint vein clearing. Flower changes inconspicuous, inflorescences somewhat reduced, occasionally slightly virescent; flowers sterile.

In addition to those listed above, several other plant species were reported to occur naturally-infected with stolbur virus and with still others negative transmission results were either reported in the literature or ob-

Fig. 18. *Callistephus chinensis* Nees: healthy (left) and infected with strain „S/Čs 1/55“ (right)

Fig. 19. *Callistephus chinensis* Nees: a row of plants of the same age infected consecutively at weekly intervals with strain „S/Čs 1/57“ (healthy control at right). The plants started to show symptoms (from left to right) on August 5, 14 and 26 and Sept. 15, respectively; photograph taken on Oct. 4

tained in our experiments. In the former case it remains doubtful whether the symptoms seen in the field were actually caused by stolbur virus infection and in the latter case negative results cannot be interpreted with certainty in terms of immunity of the respective plant species from stolbur virus. These plants therefore will not be enumerated here.

The data reported above can be summarized as follows:

a) Host range

So far, the susceptibility of 61 species belonging to 7 families has been experimentally established. They are distributed as follows: *Fabaceae* — 3 species, *Daucaceae* — 2 species, *Apocynaceae* — 1 species, *Convolvulaceae* — 5 species, *Cuscutaceae* — 3 species, *Solanaceae* — 45 species and *Asteraceae* — 2 species, The fact that most of the hosts so far established belong to the *Solanaceae* may be regarded as indicating a predilection of the research workers rather than that of the stolbur virus for these plants. Although from the economic viewpoint important as natural hosts, the solanaceous species (e. g. tomato, potato, tobacco etc.) are not important for the continuity of the virus in nature (Valenta 1956 a). In this respect an incomparably greater role is played by such wild plants as *Convolvulus arvensis*, clovers and probably asteraceous and other plants. Regarding the latter, however, insufficient experimental data are yet available, although some species have definitely been claimed to act as virus reservoirs (e. g. *Euphorbiaceae:* Goldin and Parievskaya 1950, *Hypericaceae:* Razviazkina 1957 etc.).

b) Symptoms of disease

Other conditions being equal, considerable differences were observed between some of the stolbur virus strains examined. These differences involved mainly the severity of symptoms, but they were also reflected in the course of the disease. No sharp limits could be drawn between the strains and these could be arranged into a gradual series ranging from very mild (e. g. strain S/Czechoslovakia "6/55") to very severe (e. g. strain S/Czechoslovakia "14/55"). With the more virulent strains the incubation period was somewhat (a few days) shorter and the course of disease more rapid than with the less virulent strains.

The virulence of the strains was independent of their origin, both mild and severe strains having been obtained from either naturally viruliferous leafhoppers or naturally infected plants irrespective of the geographical area. Very few strains, however, were examined from countries other than Czechoslovakia. The Swiss and Rumanian strains tested were of medium virulence and the two Bulgarian strains were different. the S/Bulgaria "1/56" strain being more virulent than the S/Bulgaria "2/56" strain. Neither was so virulent as the most severe strain S/Czechoslovakia "14/55". From the description of symptoms in the Soviet literature one could assume that in the U.S.S.R. also strains of differing virulence occur, but experimental data on this aspect are lacking.

Apart from strain differences and assuming uniform test plants and environmental conditions, symptoms have been found to remain consistent. No obvious changes in symptom expression were observed with strains which had been kept for considerable periods and variously passaged (in different hosts, by different methods of transmission).

The character of stolbur symptoms varies in different hosts. In general, 3 main types of symptom can be distinguished:

1. Flower changes, consisting of various stages of virescence, phyllody, antholysis and proliferation; the reproductive organs are usually abortive or malformed, thus leading to sterility (e. g. *Convolvulus arvensis, Vinca rosea, Nicotiana tabacum* etc.).
2. Premature wilting and death, without obvious flower changes (e. g. *Capsicum annum, Solanum tuberosum* etc.).
3. Symptoms absent or hardly distinguishable (e. g. *Nicotiana glauca*).

Some transitional stages may occur, depending on the virulence of the virus strain, environmental conditions, the individual variability of the plants and possibly also on the fluctuation of the virus content although this could not be tested experimentally. For instance, the reaction of infected potato plants may vary from almost symptomless to rapid wilting; tobacco plants may show floral changes which vary from inapparent (normal corolla) to pronounced (marked phyllody or antholysis) or, with the least virulent strains, there may even be some transient recovery from symptoms.

In addition, different symptom types occur within the limits of a plant family or genus, and in some cases (e. g. *Solanum melongena*) even within the limits of a single species. Thus the use of strictly defined test plants cannot be overemphasized.

4. Other properties

Almost nothing definite is known about the morphological, physical, chemical and antigenic properties of the stolbur virus.

The spherical particles demonstrated in electron micrographs of plant juices by VOVK and NIKIFOROVA (1955) and BLATTNÝ (1958) cannot be unequivocally interpreted as being particles of the stolbur virus itself. The same applies also to serological data reported by POZDĚNA (1954) and POZDĚNA and ČECH (1958). Several attempts were made by us to prepare a specific antiserum from plant juices treated in various ways but these were invariably negative.

It was shown that the stolbur virus is rather thermolabile *in vivo*. In *Vinca rosea* plants it was inactivated at 40 ± 2 °C for 6 days, at 43 ± 1 °C for 4 days and at 43.5 ± 0.5 °C for 5 days (VALENTA 1959 e).

There was no typical cross-protection between the stolbur virus and any of the yellows-type viruses with which it was tested, namely the Crimean

yellows virus and the Canadian, Czechoslovak and German types of potato witches' broom virus. However the stolbur virus manifested a marked suppressing effect on these viruses (VALENTA 1959 c and d). It also suppressed the parastolbur virus, as was shown in later experiments not included in the reports mentioned.

More than about the basic properties of the virus is known regarding the changes it induces in infected plants. The external symptoms have been described above. The anatomical changes, basically the same as in other yellows-type diseases (e. g. the Australian tomato big-bud: SAMUEL, BALD and EARDLEY 1933) and consisting mainly of irregularities in the phloem etc. were studied by MICHAILOVA (1935, 1936). KOSTOFF (1933 b) reported irregularities in the meiotic processes caused by the stolbur virus. Chemical analyses (KORACHEVSKY 1934, KARA-MURZA 1948) have shown that, as with other yellows-type diseases there is marked accumulation of glycides and phenolic compounds in infected plants. This has been confirmed in our pilot experiments on the paper chromatography of extracts from healthy and diseased plants.

Much has been written about the chemical changes in potato tubers showing spindly sprouts. Because other agents than the stolbur virus may also be responsible for this effect, these data will not be analysed here. It may be mentioned, however, that spindly sprouting can also be induced by the application of gibberellins (e. g. RAPPAPORT, LIPPERT and TIMM 1957) and on the basis of this similarity BOJŇANSKÝ, KOSLJAROVÁ and KOLEK (1959) claim that the effects of gibberellic acid and stolbur infection on the potato tuber are analogous.

The profound morphological changes in stolbur infected plants would undoubtedly seem to be the consequence of changes in the metabolism of growth substances. Supporting evidence for this was offered also by the results of experiments in which cuttings from infected tomato plants were rooted. The adverse effect of stolbur infection could not be eliminated by treating the cuttings with indole acetic acid (ZÁVADA and VALENTA 1959).

From all these data it is hardly possible to point out any property which is strictly specific for the stolbur virus. For the time being, therefore, it is possible to define this virus only on the basis of general biological properties and for the most part according to the disease symptoms which have been discussed above. The resemblances and differences in symptoms and other characteristics between the stolbur virus and other European yellows-type viruses will be discussed in the forthcoming parts of the present report.

CONCLUSIONS

The stolbur virus clearly is a typical yellows-type (witches' broom — BOS 1957) virus, or, in other terms, a typical member of the genus *Leptomotropus* Ryzhkov (*Chlorogenus* Holmes) in that it

1. is leafhopper-borne and

2. causes in the infected plants morphological, anatomical and biochemical changes typical of this group of viruses.

Although manifesting many properties in common with the other viruses of this group, the stolbur virus as it is understood here can be distinguished from them by the distinct disease development in some host plants. Thus it can be considered as a separate entity to which — with the reservations pointed out in the introduction — a specific name should be given. As such, *Leptomotropus (Chlorogenus) convolvuli* is proposed, in view of the important role played by *Convolvulus arvensis* in its epiphytology. We have decided to propose this new name in order to avoid any possible confusion which could result from the fact that the descriptions of entities, for which the designations listed here as synonyms were originally proposed, do not fulfil all requirements of our classification scheme.

A diagnosis including the most prominent characteristics follows:

Leptomotropus (Chlorogenus) convolvuli nomen novum.

Synonyms: *Leptomotropus Koraževscianus* Ryzhkov (1952), (not *kovaževscianus*, as erroneously given in several handbooks, e. g. KÖHLER and KLINKOWSKI 1954); *Leptomotropus solani* Ryzhkov (PROTSENKO 1958, has never been used by RYZHKOV himself); *Hyalesthesophilus solenacii* Sukhov (1956); *Chlorogenus australiensis* var. *stolbur* Kovachevski (1954); *Chlorogenus autraliensis* Holmes and other synonyms of this Australian virus *pro parte* (various authors; not in the original sense intended for the Australian virus); *Chlorogenus vaccinii* Holmes and other synonyms of this American virus *pro parte* (SMITH 1957 etc.; not in the original sense intended for the American virus); popular names (only some more important ones, including the names of the disease, are given): stolbur virus (originally Russian, has become internationally used); Tomatenfruchtverholzung (= tomato fruit woodiness, originally proposed by RYZHKOV, KORATSCHEVSKY and MICHAILOVA 1933); montar (of tobacco, Russian name); tobacco female sterility virus (KOSTOFF 1933 a) etc. The stolbur virus probably participated in the rather obscure disease of tomatoes described by SCHUSSNIG (1943) from southern Moravia and listed by KÖHLER and KLINKOWSKI (1954) as "Schussning'sche Tomatenkrankheit".

The virus occurs in a wide range of minor variants differing from one another in virulence.

Host range. So far, 61 species belonging to 7 families (*Fabaceae, Daucaceae, Apocynaceae, Convolvulaceae, Cuscutaceae, Solanaceae* and *Asteraceae*) have been established as natural or experimental hosts. The actual host range is probably very much wider.

Symptoms of disease. The symptom response of individual hosts is different. Three main types of reaction of the plants to infection can be distinguished: 1) flower changes consisting of various stages of virescence, 2) premature wilting and 3) symptomless carriers.

Transmission. This is possible 1) by transplantation of infected organs or tissues, 2) by means of dodder (*Cuscuta* spp.) and 3) by means of the following leafhoppers: *Hyalesthes obsoletus* Sign., *H. mlokosiewiczii* Sign., *Aphrodes bicinctus* (Schrk.), *Euscelis plebejus* (Fallen) and *Macrosteles laevis* (Rib.). The virus undergoes a considerable incubation period in the vectors (about a month or more in *A. bicinctus* and *E. plebejus*).

Other properties. Morphological, physical, chemical and antigenic properties not definitely known. The virus is inactivated *in vivo* (in *Vinca rosea* plants) at 40 ± 2 °C for 6 days, at 43 ± 1 °C for 4 days and at 43.5 ± 0.5 °C for 5 days. It shows a marked suppressing effect towards the following yellows-type viruses: parastolbur, Crimean yellows and potato witches' broom (Canadian, Czechoslovak and German types).

Indicator hosts. Differential diagnosis is possible only by testing the virus in several plant species, of which the most important are: *Nicotiana tabacum, N. rustica, Solanum melongena, Cyphomandra betacea, Trifolium repens, Vinca rosea, Callistephus chinensis* and *Senecio vulgaris.*

Geographical distribution: Eurasia. Experimental data are available from Bulgaria, Czechoslovakia, Hungary, Italy, Rumania, Switzerland, U.S.S.R. and Yugoslavia. Reports from Austria (Wenzl 1956); Belgium (Blattný and Brčák 1956); Germany (Hein 1958); and Turkey (Bennett 1959 — pers. comm.) need an experimental confirmation.

Summary

Investigations have been carried out into several yellows-type viruses occurring in Europe, of which the stolbur virus is dealt with in the present paper.

The stolbur virus is transmitted by 5 leafhopper vectors, namely *Hyalesthes obsoletus* Sign., *H. mlokosiewiczii* Sign., *Euscelis plebejus* (Fall.), *Aphrodes bicinctus* (Schrk.) and *Macrosteles laevis* (Rib.). So far, 61 plant species belonging to 7 families have been definitely established as natural or experimental hosts. The disease symptoms are described and the most important indicator hosts are pointed out. Data characterising other known properties and the geographical distribution of the stolbur virus are also included. *Leptomotropus* (*Chlorogenus*) *convolvuli* is suggested as a new name for the stolbur virus as characterised in the present paper.

Zusammenfassung

Es wurden Untersuchungen über die in Europa vorkommenden Gelbsuchtviren durchgeführt. In der vorliegenden Arbeit wird über das Stolbur-Virus berichtet.

Das Stolbur-Virus wird durch 5 Zikadenarten übertragen, und zwar durch *Hyalesthes obsoletus* Sign., *H. mlokosiewiczii* Sign., *Euscelis plebejus* (Fall.),

Aphrodes bicinctus (Schrk.) and *Macrosteles laevis* (Rib.). Bislang wurden 61 Pflanzenarten aus 7 Familien als natürliche oder experimentelle Wirte nachgewiesen. Die Krankheitssymptome werden beschrieben, wobei auf die wichtigsten Indikatorpflanzen hingewiesen wird. Weitere bekannte Eigenschaften und die geographische Verbreitung des Stolbur-Virus werden kurz charakterisiert. *Leptomotropus (Chlorogenus) convolvuli* wird als neuer Name für das Stolbur-Virus im Rahmen der vorliegenden Beschreibung vorgeschlagen.

Literature cited

BLATTNÝ, C., 1958: Bemerkungen zur Epidemiologie des Stolburs und der verwandten Krankheiten. Proc. 3rd Conf. Potato Virus Dis., Lisse-Wageningen 1957, Wageningen, 255—263.

— —, 1959: Modellstudien und Beobachtungen über die Gruppe der virösen Akarpien (Stolbur und Vergilbungen) an *Anagallis arvensis* L. Biol. Plantarum **1**, 310—327.

— —, et J. BRČÁK, 1956: Quelques résultats des recherches sur la maladie nommée stolbur dans la Tchécoslovaquie. Meded. Landbouwhogesch., Opzoek. stat., Gent **21**, 581—590.

— —, — —, J. POZDĚNA, J. DLABOLA, J. LIMBERK und V. BOJŇANSKÝ, 1954: Die Übertragung des Stolburvirus bei Tabak und Tomaten und seine virogeographischen Beziehungen. Phytopath. Z. **22**, 381—416.

— —, and J. LIMBERK, 1956: Implantace úlomku pletiv jako zpusob pro přenos stolburu (Implantation of tissue fragments as a mode of stolbur transmission). Preslia **28**, 413—414.

BOJŇANSKÝ, V., V. KOSLJAROVÁ and J. KOLEK, 1959: Analógia vplyvu giberelínu a stolburu na klíčenie zemiakových hlúz (The analogy between the effect of gibberellin and stolbur on sprouting of potato tubers). Biológia (Bratislava) **14**, 863—867.

BOS, L., 1957: Heksenbezemverschijnselen. Een pathologisch-morfologisch onderzoek. Meded. Landbouwhogesch., Wageningen **57**, 1—79.

BOVEY, R., 1956: Une nouvelle maladie à virus de la tomate en Suisse Romande. Ann. agric. Suisse **57**, 599—611.

BRČÁK, J., 1954: Nový přenašeč stolburu (bezsemennosti) rajčete a tabáku — křísek *Aphrodes bicinctus* Schrk. (A new vector of the stolbur (seedlessness) of the tomato and tobacco — the leafhopper *Aphrodes bicinctus* Schrk.). Zool. ent. Listy **3**, 231—237.

BREZHNEV, D. D. (editor), 1958: Ovoshchnye paslyonovye (Vegetable plants. Fam. *Solanaceae*). Flora of cultivated plants of the USSR, vol. 20, State Agric. Publishing Office, Moscow—Leningrad.

COSTA, A. S., 1944: Multiplication of viruses in the dodder *Cuscuta campestris*. Phytopathology **34**, 151—162.

DANERT, S., 1954: Die medizinisch genutzten *Datura*-Arten und deren Benennung. Pharmazie **9**, 349—367.

— —, 1955: Ein Beitrag zur Kenntnis der Gattung *Datura* L. Feddes Repertorium **57**, 231—242.

DOSTÁL, J., 1954: Klíč k úplné květeně ČSR (Key to the complete flora of Czechoslovakia). Czechoslovak Acad. Sci., Praha.

GOLDIN, M. I., and A. P. PARIEVSKAYA, 1950: Materialy po stolburu tomatov v Krymu (Materials on the stolbur of tomatoes in the Crimea). Mikrobiologija **19**, 527—531.

Grancini, P., 1958: Un gruppo di virus delle piante importanti ma poco noti. Boll. Agric. No. 36, 37 (sep. 22 pp.).

Hawkes, J. G., 1956: A revision of the tuber-bearing Solanums. Scot. Plant Breedg. Stat. Annual Rep., 37—109.

Hein[1]), A., 1958: Stolbur und aster yellows in Deutschland. In: Stolbur a príbuzné vírusové bezsemennosti rastlín, Slov. Acad. Sci., Bratislava, 139—141.

Kara-Murza, L. Kh., 1948: Dubilnye veshchestva v rasteniyakh porazhennykh virusami (Tannic compounds in virus nifected plants). Doklady Akad. Nauk SSSR **61**, 301—304.

Khudyna, I. P., 1941: Virusnye bolezni tabaka i makhorki v SSSR i mery borby s nimi (Virus diseases of tobacco and *Nicotiana rustica* in the USSR and methods of their control). In Virus diseases of plants and methods of their control. USSR Acad. Sci., Moscow—Leningrad, 203—218.

Klinkowski, M., 1958: Beiträge zur Kenntnis der Stolburkrankheit der Kartoffel. Proc. 3rd Conf. Potato Virus Dis., Lisse-Wageningen 1957, Wageningen, 246—277.

Köhler, E., und M. Klinkowski, 1954: Viruskrankheiten. In Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten II/1, 6th ed., Berlin—Hamburg.

Korachevsky, I. K., 1934: Biokhimicheskoe issledovanie stolburnogo zabolevaniya tomatov (Biochemical investigations on the stolbur disease of tomatoes). In Virus diseases of plants in the Crimea and Ukraine, Simferopol, 74.

— —, 1936: Stolburnoe zabolevanie rastenii (The stolbur disease of plants). In Virus diseases of plants, ed. by M. S. Dunin, USSR Acad. agric. Sci., Moscow—Leningrad, 99—111.

— —, 1941: Izyskanie mer borby so stolburom v ovoshchevodstve (Establishment of control measures against stolbur in olericulture). In Virus diseases of plants and their control, USSR Acad. Sci., Moscow—Leningrad, 255—263.

— —, and A. V. Semenkova, 1938: O porazhaemosti paslyonovykh i vyunkovykh virusom stolbura (On the susceptibility of *Solanaceae* and *Convolvulaceae* to the stolbur virus). In Virus diseases of plants, vol. 2, ed. by M. S. Dunin, Branch office of the All-Union Institute of Plant Protection, Moscow, 118—124.

Kostoff, D., 1933 a: Virus diseases causing sterility. Phytopath. Z. **5**, 593—602.

— —, 1933 b: A contribution to the sterility and irregularities in the meiotic processes caused by virus diseases. Genetica **15**, 103—114.

Kovachevsky[2]), I. C., 1954: Die Stolburkrankheit der Solanaceen. Nachr.bl. dtsch. Pfl.schutzd. (Berlin) n. F. **8**, 161—166.

— —, 1956: Viruskrankheiten der Kulturpflanzen in der Volksrepublik Bulgarien. In Pflanzenschutzkongreß Berlin 1955, Kongreßbericht, Deutsche Akademie der Landwirtschaftswissenschaften Berlin, 67—82.

— —, 1958: Die Stolburkrankheit der Solanaceen in Bulgarien. Stolbur a príbuzné vírusové bezsemennosti rastlín, Slov. Acad. Sci., Bratislava, 119—138.

Michailova, P. V., 1935: Pathologico-anatomical changes in the tomato incident to development of woodiness of the fruit. Phytopathology **25**, 539—558.

— —, 1936: Patologicheskie izmeneniya generativnykh thaney pomidora, bolnogo odereveneniem plodov (The pathological changes of generative tissues of the tomato plant affected with woodiness of the fruit). In Virus diseases of plants, ed. by M. S. Dunin, USSR Acad. agric. Sci., Moscow—Leningrad, 92—98.

1) In the original Heine, but this is a misprint.

2) The correct transcription is Kovachevski.

MIŠIGA, S., M. MUSIL and V. VALENTA, 1960: Niektoré hostitel'ské rastliny vírusu zelenokvetosti d'ateliny (Some host plants of the clover phyllody virus). Biológia (Bratislava) **15**, 538—542.

— —, and V. VALENTA, 1957: Prenos vírusu stolburu prostredníctvom niektorých druhov kukučín (Transmission of stolbur virus by dodder). Biológia (Bratislava) **12**, 652—660.

MUSIL, M., 1959: Übertragung des Stolburvirus durch die Zikade *Euscelis plebejus* (Fallen). Biológia (Bratislava) **14**, 410—417.

— —, 1960: Übertragung des Stolbur-, Kleeverzwergungs- und Kleeverlaubungsvirus durch die Zikade *Aphrodes bicinctus* (Schrk.). Biológia (Bratislava) **15**, 721—728.

— —, and V. VALENTA, 1958: Prenos stolburu a príbuzných vírusov pomocou niektorých cikád (Transmission of the stolbur and related viruses by some leafhoppers). Biológia (Bratislava) **13**, 133—136.

PANJAN, M., 1950: Ispitivanje stolbur-a Solanacea i način suzbijanja (Investigations on stolbur of the *Solanaceae* and its control). Zaštita bilja **2**, 49—58.

— —, 1958: Stolbur v Juhoslávii (Stolbur in Yugoslavia). Stolbur a príbuzné vírusové bezsemennosti rastlín, Slov. Acad. Sci., Bratislava, 102—108.

PONER, V. M., 1941: O vospriimchivosti razlichnykh vidov i sortov paslyonovykh k stolburu (On the susceptibility of different solanaceous species and varieties to stolbur). In Virus diseases of plants and methods of their control, USSR Acad. Sci., Moscow—Leningrad, 227—244.

POZDĚNA, J., 1954: Antigenní vlastnosti stolburu (Antigenic properties of stolbur). Čs. Biologie **3**, 366—369.

— —, and M. ČECH, 1958: Příprava protistolburového séra a vliv inhibitoru na serologické reakce stolburu (The preparation of the stolbur antiserum and the influence of the inhibitors on the serological reactions of the stolbur). Stolbur a príbuzné vírusové bezsemennosti rastlín, Slov. Acad. Sci., Bratislava, 198—204.

PROTSENKO, A. E., 1958: O vzaimootnoshenii virusov stolbura (*Leptomotropus solani* Ryzkov) i zheltukhi astr (*Leptomotropus callistephi* Ryzkov) (On the relationship of the stolbur [*Leptomotropus solani* Ryzkov] and aster yellows [*Leptomotropus callistephi* Ryzkov] viruses). Vopr. Virusol. **3**, 292—296.

RAPPAPORT, L., L. F., LIPPERT and H. TIMM, 1957: Sprouting, plant growth, and tuber production as affected by chemical treatment of white potato seed pieces. I. Breaking the rest period with gibberellic acid. Amer. Potato J. **34**, 254—260.

RAZVIAZKINA, G. M., 1950: O rasprostranenii virusa stolbura v prirode (On the distribution of the stolbur virus in nature). Mikrobiologija **19**, 256—259.

— —, 1957: Niektoré nové poznatky o stolbure v SSSR (Some new data on the stolbur virus in the USSR). Biológia (Bratislava) **12**, 577—585.

RYZHKOV, V. L., 1934: Filtruyushchiysya virus kak prichina pozeleneniya tsvetkov (Filterable virus as the cause of virescence of flowers). In Virus diseases of plants in the Crimea and Ukraine, Simferopol, 59—73.

— —, 1946: Fitopatogennye virusy (Phytopathogenic viruses). Moscow—Leningrad.

— —, 1952: Sistematika virusov v sovremennoi literature (Systematics of viruses in contemporaneous literature). Mikrobiologija **21**, 458—476.

— —, I. KORATSCHEVSKY und P. MICHAILOVA[1]), 1933: Über die Fruchtverholzung bei Tomaten. Z. Pfl.krankh. **43**, 496—498.

[1]) In the original, the authors' names are given as follows: V. RISCHKOW, J. KARATSCHEVSKY and P. MICHAILONA, there being two misprints in the latter two names.

Samuel, G., J. G. Bald and C. M. Eardley, 1933: "Big bud", a virus disease of the tomato. Phytopathology **23**, 641—653.

Samundzheva, E. M., 1949: Nekotorye dannye po izucheniyu perenoschika stolbura tomatov v Gruzii (Some results of investigations on the vector of stolbur of tomatoes in the Georgian SSR). In Works of the Institute of Plant Protection, Acad. Sci. of the Georgian SSR **6**, 159—160 (in Georgian) and 161—162 (Russian).

Săvulescu, A., and I. Pop, 1956: Contributii la studiul stolburului in Rominia. Bul. stiintific sectia de biologie si stiinte agricole **8**, 723—737.

Schussnig, B., 1943: Eine neue Viruskrankheit der Tomatenpflanzen. Forschungsdienst **16**, 62—84.

Smith, K. M., 1957: A textbook of plant virus diseases. 2nd ed., London.

Sukhov, K. S., 1956: Virusy (The viruses). Moscow.

— —, and G. M. Razviazkina, 1955: Biologiya virusov i virusnye bolezni rastenii (Virus biology and virus diseases of plants). Moscow.

— —, and A. M. Vovk, 1946: Cikadka *Hyalesthes obsoletus* Sign., perenoschik stolbura paslyonovykh (The leafhopper *Hyalesthes obsoletus* Sign. a vector of stolbur of the *Solanaceae*). Doklady Acad. Nauk SSSR **53**, 153—156.

— —, and — —, 1949: Stolbur paslyonovykh (Stolbur of the *Solanaceae*). Moscow—Leningrad.

Szirmai, J., 1958: Stolbur-virus Magyarországon (Stolbur virus in Hungary). Stolbur a príbuzné vírusové bezsemennosti rastlín, Slov. Acad. Sci., Bratislava, 109—118.

Valenta, V., 1955: O stolbure II. Experimentálna diagnostika choroby (On the stolbur II. Experimental diagnosis of the disease). Práce II. sekcie SAV Bratislava **1** (8), 22 pp.

— —, 1956 a: Prírodná ohniskovost' stolburu l'ul'kovitých (The occurrence of stolbur of the *Solanaceae* in natural foci of infection). Biologické Práce **2** (10), 36 pp.

— —, 1956 b: Doplnky k okruhu kostitel'ov vírusu stolburu (Supplements to the host plant range of the stolbur virus). Čs. Biologie **5**, 213—217.

— —, 1958 a: A new yellows virus causing flower proliferations in the dodder, *Cuscuta campestris* Yunck. Phytopath. Z. **33**, 316—318.

— —, 1958 b: Potato witches' broom in Czechoslovakia. Proc. 3rd. Conf. Potato Virus Dis., Lisse-Wageningen 1957, Wageningen, 246—250.

— —, 1958 c: Otázka „severného stolburu" v Československu (A contribution to the question of north-stolbur in Czechoslovakia). Stolbur a príbuzné vírusové bezsemennosti rastlín, Slov. Acad. Sci., Bratislava, 168—177.

— —, 1958 d: Insect transmission and host plants of the stolbur virus. Proc. 3rd. Conf. Potato Virus Dis., Lisse-Wageningen 1957, Wageningen, 278—282.

— —, 1958 e: Problem stolbura i srodnih žutica u Čehoslovačkoj (The problem of stolbur and related yellows type virus diseases in Czechoslovakia). Agronomski glasnik (Zagreb) **8**, 87—102 .

— —, 1959 a: Zwei bisher unbekannte, Kartoffelwelke verursachende Viren aus Mitteleuropa. Phytopath. Z. **35**, 271—276.

— —, 1959 b: Versuch eines Vergleichs der Viren der Asterngelbsuchtgruppe. Proc. IVth Internat. Congr. Crop Protection, Hamburg 1957, Braunschweig, **1**, 377—379.

— —, 1959 c: Interference studies with yellows-type plant viruses. I. Cross protection tests with European viruses. Acta virol. **3**, 65—72.

— —, 1959 d: Interference studies with yellows-type plant viruses. II. Cross protection tests with European and American viruses. Acta virol. **3**, 145—152.

Valenta, V., 1959 e: Pokusy s tepelnou inaktiváciou niektorých európskych žltačkových vírusov in vivo (Experiments on thermal inactivation of some European yellows viruses *in vivo*). Biológia (Bratislava) **14**, 146—149.

— —, 1961: Nepravidelnosti pri prenose niektorých žltačkových vírusov rastlín (Irregularities in transmission of some yellows-type plant viruses). Biológia (Bratislava) **16**, in press.

— —, and M. Musil, 1956: O stolbure III. Pokusy s prenosom stolburu rôznymi vektormi (On the stolbur III. Experiments on the transmission of stolbur by means of different vectors). Zool. Listy **5**, 23—28.

Vovk, A. M., and G. S. Nikiforova, 1955: Issledovanie virusa stolbura v elektronnom mikroskope (Investigations on the stolbur virus in the electron microscope). Doklady Akad. Nauk SSSR **102**, 839—840.

Wenzl, H., 1956: Die Stolbur-Viruskrankheit in Österreich. Der Pflanzenarzt **9**, 4—7.

Závada, J., and V. Valenta, 1959: Root formation in plants infected with yellows-type viruses. Biol. Plantarum **1**, 123—125.

Stations Fédérales d'Essais Agricoles de Lausanne
Domaine du Château de Changins sur Nyon
Directeur: Prof. Dr. R. Gallay

Considérations sur l'épidémie de mildiou du tabac (*Peronospora tabacina* Adam) en Europe

par

R. Corbaz

Avec 2 figures

Vu l'importance des dégâts causés par le mildiou du tabac aux cultures de l'Europe occidentale en 1960, il paraît opportun de fixer quelques points du déclanchement et du déroulement de l'épidémie dont l'ampleur se reflète dans le tableau 1.

Historique: Originaire d'Australie où il attaque les tabacs industriels et sauvages (Hill 1957), le champignon *Peronospora tabacina* Adam est observé en mars 1921 dans quelques couches de Floride; c'est là sa

Tableau 1

Pertes causées par le mildiou du tabac en 1960*)

Pays	% de la récolte détruits	en tonnes	en millions de francs suisses
Autriche	25	200	0,5
Belgique	65	2 700	4.5
France	17	10 000	50
Italie	4	4 000	8
République démocratique allemande	30	1 700	12
République fédérale allemande	60	6 000	40
Suisse	10	250	1
Tchécoslovaquie	30	2 700	25
		27 550	141

*) D'après les estimations données par les représentants des pays touchés, à la réunion d'octobre 1960 du Coresta (Centre de coopération pour les recherches scientifiques relatives au tabac).

première apparition en Amérique du Nord. Sa progression est lente, puisqu'il n'est plus observé jusqu'en 1931 (McGRATH et MILLER 1959); par vagues épidémiques successives, le parasite atteint le Canada, puis Cuba en 1957 (cf. fig. 1).

Bien que provoquant des dégâts dans les champs, le mildiou affecte, en Amérique du Nord, surtout les plantes en couche.

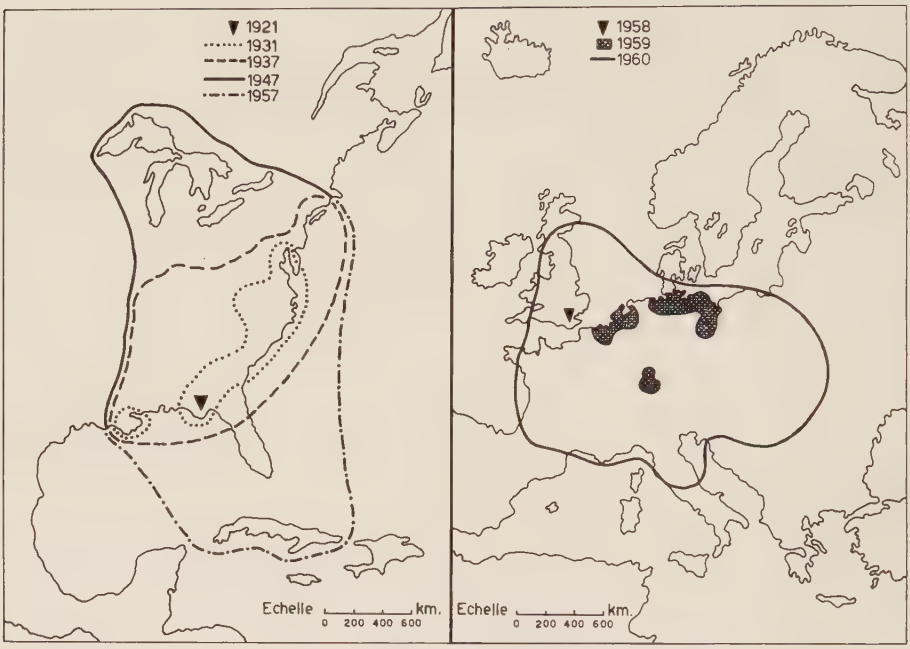

Fig. 1. Progression de *Peronospora tabacina* Adam en Amérique du Nord et en Europe

Déroulement de l'épidémie européenne

Introduit, semble-t-il, en Grande-Bretagne en 1957 par une maison de produits chimiques et antiparasitaires dans le but d'effectuer des essais en serre, le *Peronospora tabacina* Adam aurait attaqué cette même année des tabacs ornementaux.

En 1958, le mildiou semble se propager sur tabacs ornementaux dans les jardins familiaux des environs de Londres; il apparaît dans 4 serres de stations de recherches ou d'instituts scientifiques sur des tabacs utilisés pour des études de virologie.

En 1959, on signale la présence du mildiou sur des tabacs d'un institut agronomique en Hollande, puis dans les cultures (environ 50 ha.) de la province d' Utrecht dont la majeure partie de la récolte a été anéantie (Rapport OEPP, 1. 12. 1960). De ce foyer, la maladie s'étend rapidement en Allemagne du nord (Oldenbourg et Holstein: juillet-août) puis en Belgique (15 août). A la suite d'un échange de lignées de tabac résistantes aux virus,

le champignon est observé dans un centre de recherche de Tübingen, en mai déjà.

En 1960, les premiers foyers apparaissent dans le sud de l'Allemagne où le champignon a pu se maintenir sous la forme conidienne jusqu'au moment de la plantation. A la fin mai, tout le sud de l'Allemagne est envahi. La maladie apparaît à la même époque en Belgique (Flandre occidentale). Favorisé par des conditions climatiques exceptionnelles, le parasite déferle sur toutes les cultures de l'Europe; en juillet il se trouve en France, en Hollande, en Allemagne orientale, en Suisse, en Tchécoslovaquie; en août il atteint la Pologne, l'Italie, la Hongrie et la Yougoslavie; il est signalé plus tard en Roumanie et en Union soviétique (Transcarpathie). Après la récolte, la maladie est encore apparue sur les pousses nouvelles, dans des régions épargnées jusqu'alors, comme la Gironde et le Gers en France et la province de Salerno en Italie.

La fig. 1 indique l'extension du mildiou du tabac à fin décembre 1960; elle met en évidence la différence de vitesse de propagation sur les continents européen et américain.

La situation en Suisse

Le mildiou du tabac est apparu pour la première fois dans la région de Flaach (vallée de la Thour) le 21 juillet 1960; la maladie progressa vers le sud et traversa rapidement les Alpes (Corbaz 1960); le 16 août elle était découverte au Tessin, dans une culture très en amont de la plaine de Maga-

Fig. 2. Carte de la culture du tabac en Suisse

Tableau 2

Zones de cultures du tabac en Suisse

Régions	Date d'apparition du mildiou	Pertes dues au mildiou en tonnes et en %		Culture 1960		Culture 1961	
				Surface (ha)	Variétés	Surface (ha)	Variétés
1. Vallée de la Thour	21. 7.	150	65	90	MC Jaune	15	Alta
2. Vallée du Rhin	8. 8.	10	20	20	MC Jaune	6	Alta
3. Safnern	11. 8.			16	MC Jaune	7	MC Jaune
4. Ajoie	11. 8.	15	30	30	MC Jaune	16	MC Jaune
5. Cortaillod	après le 16. 8.	8	10	0.5	MC Brun	0.5	MC Brun
6. Belmont	idem			25 15	Alta MC Jaune	20 10	Alta MC Jaune
7. Broye	16. 8.	10	1	407	MC Brun	380	MC Brun
8. Plaine du Rhône	15. 8.	100	20	170 50 15	MC Jaune Alta MC Brun	120 50 18	MC Jaune Alta MC Brun
9. Valais central	19. 8.			18	MC Jaune	12	MC Jaune
10. Magadino	16. 8.	20	3	40 50 10	Alta Habur 21 Maryland	40 40	Alta Habur 21
11. Lugano	après le 16. 8.			32	Alta	30	Alta
12. Mendrisiotto	idem			40 60 40	Burley 2 Alta MC Brun	60 50 30	Burley 2 Alta MC Brun
13. Poschiavo	sans mildiou			10	Paesana	10	Paesana
Suisse		313		1138.5		914.5	

dino (zone 10 de la fig. 2). Les dates d'apparition de la maladie dans la plaine du Rhône laissent supposer que le champignon n'a pas remonté la vallée mais est arrivé dans les cultures du Valais central en traversant les

chaînes montagneuses. Dans cette dernière zone, des champs situés en amont, dans une région où la vigne est rarement menacée par le mildiou (*Plasmopora viticola* [Berk et Curt.] Berl. et de Toni) furent les premiers atteints; la progression en aval resta lente. La fig. 2 et le tableau 2 prècisent pour chaque région les pertes et les changements de cultures prévus pour 1961.

Les variétés cultivées en Suisse n'ont pas toutes la même sensibilité; il semble qu'il existe une relation directe entre la teneur en nicotine et le degré de résistance de la variété (cf. tableau 3).

Le duvet bleuté caractéristique qui recouvre la face inférieure des feuilles paraissant moins dense sur la variété Alta, un comptage des conidies permit de constater que *Peronospora tabacina* Adam ne sporule pas avec la même intensité sur chacune des variétés cultivées (tableau 4).

En Suisse, les conséquences de l'apparition du mildiou du tabac sont les suivantes:

a) pertes totales d'un million pour 1960, dont 200 000.— Fr. provenant de la diminution qualitative du tabac atteint,

Tableau 3

Relation entre la teneur en nicotine et la sensibilité au mildiou des variétés de tabac cultivées en Suisse

Variétés	Teneur en nicotine (moyenne de 5 ans) %*)	Degré d'attaque de *Peronospora tabacina* Adam**) (essais en serre, en 1960)
Paesana	3.60	6.7
Burley 2	2.01	7.0
MC brun	1.94	8.2
Alta	1.72	8.2
Habur 21	1.45	8.4
MC jaune	0.87	9.3

*) % de la matière sèche.

**) échelle: 0 = sans mildiou; 10 = surface foliaire entièrement recouverte de mildiou.

Tableau 4

Fructification de *Peronospora tabacina* Adam sur 3 variétés de tabac

Variétés	Longueur de la feuille	Nombre de conidies au cm²*)
Alta	40 cm env.	220 000
	20 cm env.	280 000
MC Brun	40 cm env.	318 500
	20 cm env.	402 500
MC Jaune	40 cm env.	708 500
	20 cm env.	1 445 500

*) Moyenne de 30 décomptages.

b) diminution des surfaces cultivées en tabac pour 1961 d'environ 224 ha., soit près de 20 % des surfaces de 1960; la régression est particulièrement forte en Suisse allemande où la culture devient insignifiante: 3 % de la surface totale en 1961 contre 11 % en 1960,
c) la variété la plus sensible, le MCJaune tend à diparaître et sera remplacée en partie par les variétés plus résistantes: le MC Brun et l'Alta.

Résumé

On retrace le déroulement de l'épidémie de mildiou du tabac en Europe dont les principales étapes sont:

1957—1958: introduction et propagation en Grande-Bretagne.
1959: apparition sur le continent, en Hollande d'abord puis jusqu'en Allemagne.
1960: apparition de la maladie dans les pays suivants: Allemagne occidentale et orientale, Autriche, Belgique, France, Hollande, Hongrie, Italie, Pologne, Roumanie, Suisse, Tchécoslovaquie, U.R.S.S. et Yougoslavie.

En Suisse, les cultures septentrionales sont les premières et les plus gravement touchées alors que le centre important de la vallée de la Broye ne subit que peu de dégâts. On constate une relation directe entre la teneur en nicotine et le degré de résistance au mildiou chez les variétés cultivées en Suisse.

Zusammenfassung

Es wird der Verlauf der Blauschimmelepidemie in den europäischen Tabakkulturen geschildert, deren Hauptetappen die folgenden waren:

1957—1958: Einführung und Verbreitung in England.
1959: Auftreten auf dem europäischen Festland, zuerst in Holland und dann Vordringen bis nach Deutschland.
1960: Erscheinen der Krankheit in den folgenden Ländern: Belgien, Ost- und Westdeutschland, Frankreich, Holland, Italien, Österreich, Polen, Rumänien, Schweiz, Tschechoslowakei, Ungarn, UdSSR und Jugoslawien.

In der Schweiz wurden die Kulturen im Norden des Landes zuerst und am schwersten befallen. Dagegen waren die Schäden im wichtigsten Anbaugebiet des Broyetales gering. Bei den in der Schweiz angebauten Sorten wurde eine direkte Beziehung zwischen Nikotingehalt und Blauschimmelresistenz festgestellt.

Bibliographie

Corbaz, R., 1960: Le mildiou du tabac en Suisse. Rev. rom. Agric., Vitic., Arboric. **16** (12), 101—104.

Hill, A. V., 1957: Blue Mould of Tobacco. A Review. Techn. Pap. Div. Plant Ind. C. S. J. R. O. Austr. No. 9.

McGrath, H., and P. R. Miller, 1959: Blue Mold of Tobacco. Tobacco Sci. **3**, 11—33.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Virusserologie und Institut für landwirtschaftliche Virusforschung, Braunschweig

Vergleichende serologische und elektronenmikroskopische Untersuchung des Weißkleemosaik-Virus, des Hydrangea ringspot virus und des Kartoffel-X-Virus

Von

R. Bercks und J. Brandes

Mit 4 Abbildungen

I. EINLEITUNG

In einer vorangehenden Arbeit berichteten Brandes und Wetter (1959) über ihren Versuch, gestreckte Pflanzenviren auf natürlicher Grundlage zu klassifizieren. Sie stellten fest, daß bei einigen Viren zwischen morphologischen Daten der Viruspartikeln und serologischer Verwandtschaft offenbar Beziehungen bestehen. Deshalb forderten sie, von der Morphologie der Virusteilchen ausgehend, weitere serologische Untersuchungen anzustellen. Kürzlich konnte nun Bercks (1960 b, 1961) zeigen, daß Rübenmosaik-Virus, Kartoffel-Y-Virus und Gelbes Bohnenmosaik-Virus serologisch miteinander verwandt sind. Das letztgenannte Virus unterscheidet sich geringfügig durch eine etwas größere Normallänge von den beiden anderen Viren, die keine Differenz der morphologischen Daten erkennen lassen.

Die bisherigen Ergebnisse dieser Art deuten darauf hin, daß Morphologie und Serologie geeignete Kriterien sind, nach denen eine natürliche Verwandtschaft der Viren beurteilt werden kann.

Weißkleemosaik-Virus (WKMV), Hydrangea rinspot virus (HyV) und Kartoffel-X-Virus (XV) zeigen große Ähnlichkeiten in einer Reihe von Eigenschaften einschließlich der Morphologie.

WKMV wurde erstmals von Brandes und Quantz (1957) vermessen und dabei eine Normallänge von 476 mμ ermittelt; vergleichende Vermessungen mit dem XV erbrachten einen deutlichen Unterschied. In der Zwischenzeit ist die Normallänge des WKMV mehrfach bestätigt worden (Bos et al. 1959, Fry et al. 1960, Bancroft et al. 1960).

HyV wurde von Sisler et al. (1957) und Hollings (1958) elektronenmikroskopisch dargestellt. Genaue Längenmessungen der fadenförmigen Viruspartikeln wurden nicht gemacht.

Über Größenbestimmungen des XV berichteten BODE und PAUL (1955). In den folgenden Jahren wurde das XV häufig in unserem Institut vermessen und in allen Fällen die Normallänge zu etwa 515 mμ bestimmt.

HOLLINGS (1958) hatte bereits versucht, serologische Verwandtschaft zwischen XV und HyV nachzuweisen und BOS et al. (1959) prüften die serologische Beziehung zwischen XV und WKMV; in keinem Falle wurde jedoch eine serologische Reaktion erhalten. Allerdings hatte BERCKS (1961) gezeigt, daß positive Kreuzreaktionen zwischen verschiedenen Viren von der Qualität der verwendeten Antiseren abhängig sind.

Nachdem es uns gelungen war, hochtitrige Antiseren herzustellen, haben wir deshalb die Frage der Verwandtschaft zwischen WKMV, HyV und XV erneut aufgegriffen. Außerdem erschien es notwendig, das Verhältnis der Normallängen der drei Viren durch vergleichende Messungen so genau wie möglich zu bestimmen.

V e r w e n d e t e V i r e n u n d W i r t s p f l a n z e n : Das von uns verwendete WKMV wurde von QUANTZ von Weißklee isoliert; es ist nicht zu unterscheiden von dem Isolat, das bereits früher von BRANDES und QUANTZ (1958) benutzt wurde. BOS et al. (1960) konnten auf serologischem Wege zeigen, daß verschiedene Isolate des WKMV aus vielen Teilen der Welt, einschließlich des von uns verwendeten, augenscheinlich identisch oder zumindest sehr nahe verwandt sind.

HyV wurde freundlicherweise von Dr. M. HOLLINGS, der grundlegende Untersuchungen an diesem Virus gemacht hat (HOLLINGS 1958), zur Verfügung gestellt.

Das verwendete Isolat des XV war eine Gewächshaus-Kultur, die seit vielen Jahren in unserem Institut gehalten wird.

Für das WKMV benutzten wir als Wirtspflanze *Phaseolus vulgaris* (Top crop), für das HyV *Primula malacoides* und für das XV *Nicotiana tabacum* (Samsun). Bei den elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurde zum Vergleich das WKMV auch von *Vicia faba* und das HyV auch von *Gomphrena globosa* präpariert.

II. ELEKTRONENMIKROSKOPISCHER TEIL

M e t h o d i k : Bei der elektronenmikroskopischen Präparation haben wir ausschließlich die Tauchmethode (BRANDES 1957, 1961) angewandt: Kleine rechteckige Stücke wurden mit einer Rasierklinge aus der Lamina der Blätter — soweit möglich aus Zonen mit deutlichen Symptomen — ausgeschnitten. Sodann wurde mit einer Pinzette eine Schnittfläche dieser Stückchen kurz in einen Tropfen aqua bidest. getaucht, der zuvor auf den mit einem Kollodiumfilm überzogenen Netzobjektträger gebracht worden war. Danach wurden die Präparate an der Luft getrocknet. Für vergleichende Messungen wurden Präparate aller drei Viren auf einem Träger gemeinsam mit Palladium schräg bedampft. Die Aufnahmen erfolgten mit einem elektrostatischen Elektronenmikroskop (Zeiss EM 8/2) bei einer Vergrößerung von 5320. Zum Vermessen wurden die Aufnahmen auf 40 000fach vergrößert. Die Messungen wurden an

Abb. 1. Partikeln des Weißkleemosaik-Virus (A), des Hydrangea ringspot virus (B) und des Kartoffel-X-Virus (C). Vergrößerung 40 000×

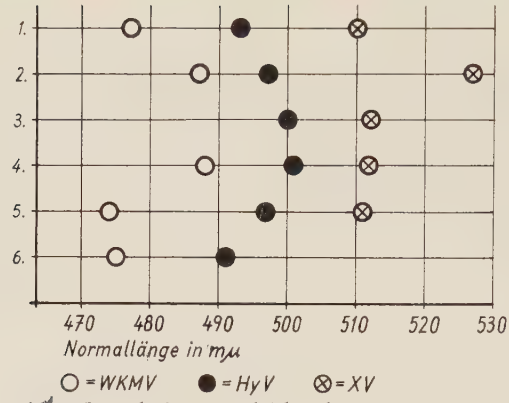

Abb. 2. Ergebnisse vergleichender Vermessungen der Teilchen des Weißkleemosaik-Virus, des Hydrangea ringspot virus und des Kartoffel-X-Virus (sechs Versuchsreihen)

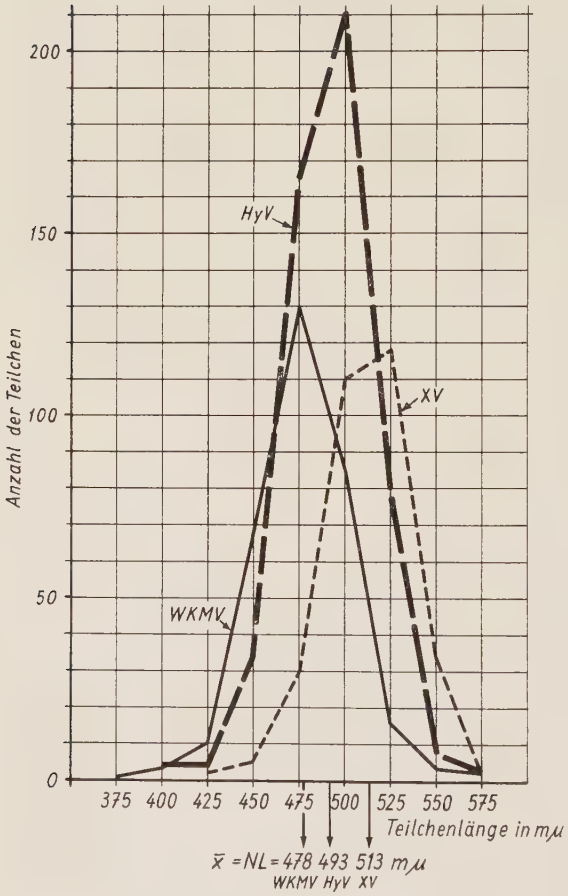

Abb. 3. Häufigkeitsverteilungen der Längen der Partikeln des Weißkleemosaik-Virus, des Hydrangea ringspot virus und des Kartoffel-X-Virus

demselben Tage von derselben Person ausgeführt. Die Normallängen wurden, wie bereits vorher beschrieben (BRANDES und WETTER 1959) bestimmt.

Ergebnisse: In allen Präparaten von viruskranken Pflanzen konnten die bekannten fadenförmigen Virusteilchen beobachtet werden. Sie fehlten in gesunden Kontrollpflanzen. Wie aus Abbildung 1 zu sehen ist, konnten keine Unterschiede in der Gestalt der drei Viren festgestellt werden. Auch Unterschiede in der Dicke der Partikeln konnten nicht ermittelt werden. Beim HyV und WKMV ergaben Präparate von verschiedenen Wirtspflanzen die gleichen Meßwerte.

Die Resultate von sechs vergleichenden Vermessungen der Längen der Virusteilchen sind in Abbildung 2 zusammengefaßt. Bei zwei Versuchsreihen (Nr. 3 und Nr. 6) konnten nur zwei Viren miteinander verglichen werden. Die Bestimmung der Normallängen basiert auf der Vermessung von je 40 bis 200 Viruspartikeln.

Wenn auch kleinere Unterschiede bei den verschiedenen Vermessungen zu verzeichnen sind, so ist das Verhältnis der Normallängen der drei Viren zueinander klar zu erkennen.

Die Längenverteilungskurven in Abbildung 3 zeigen zusammengefaßt alle Meßergebnisse aus den sechs Versuchen. Die Normallängen, die aus diesen Kurven bestimmt wurden, sind 478 mμ für WKMV, 493 mμ für HyV und 513 mμ für XV. Die Werte für WKMV und XV stehen in sehr guter Übereinstimmung mit den aus der Literatur bekannten (siehe Einleitung). Unsere Ergebnisse zeigen, daß es möglich ist, WKMV, HyV und XV auf Grund vergleichender Messungen der Viruspartikeln zu unterscheiden.

III. SEROLOGISCHER TEIL

Methodik: Zur Herstellung der Seren verwendeten wir gereinigte Viruspräparate, die für das XV nach der Methode von Pfankuch und Kausche (1938), für die beiden anderen Viren nach dem Verfahren von Wetter (1960) gewonnen wurden. Die Immunisierung der Kaninchen erfolgte intravenös oder intramuskulär oder durch Kombination beider Verfahren. In einigen Fällen steigerten wir die Titer der Seren durch Konzentrierung der Antikörper (Bercks 1960 a). Die Seren wurden bis zu ihrer Verwendung in flüssigem, gefrorenem oder gefriergetrocknetem Zustand aufbewahrt. Wir benutzten 17 verschiedene XV-Seren (hergestellt in den Jahren 1948 bis 1961), sowie 5 WKMV- und 3 HyV-Seren (hergestellt 1959 und 1960).

Die serologischen Reaktionen führten wir nach der Tropfenmethode auf Objektträgern, nach der Mikromethode (van Slogteren 1955) oder nach dem Röhrchentest im Wasserbad bei 40 °C durch. Als Antigen benutzten wir Preßsäfte infizierter Pflanzen und in einigen Fällen gereinigte Viruspräparate. Die Preßsäfte wurden durch niedrigtouriges Zentrifugieren geklärt. Für den Röhrchentest wurden sie zuvor für 10 min. auf 45 °C erhitzt. Auch für den Mikrotest, der sich des öfteren jedoch nicht einwandfrei auswerten ließ, wurde teilweise eine Klärung durch Erhitzen oder durch Alterung im Kühlschrank vorgenommen.

In den meisten Fällen arbeiteten wir gleichzeitig mit Serum- und Antigenverdünnungen. In einigen Versuchen wurde der Antigengehalt der Preßsäfte in einem Vorversuch mit dem homologen Antiserum ausgetitert und im Hauptversuch nur Serumverdünnungen bei einer geeigneten Antigenverdünnung hergestellt.

Die Stärke der Präzipitinreaktionen wurde in Zahlen ausgedrückt (0—4; $\underline{0}$ = Spur).

Die Versuche wurden zu verschiedenen Jahreszeiten durchgeführt.

Ergebnisse: Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die erzielten Ergebgebnisse. Daraus geht hervor, daß XV-Seren mit WKMV und HyV heterolog reagieren. Ebenso reagierten WKMV-Seren mit XV und HyV. Dagegen reagierten die HyV-Seren in unseren bisherigen Versuchen nur mit dem XV, nicht aber mit WKMV. Die jeweils durchgeführten Kontrollen mit Saft gesunder Pflanzen sowie mit Normalserum waren einwandfrei. Der Grad der heterologen Reaktionen hing im wesentlichen von dem homologen Titer und dem Antigengehalt der untersuchten Preßsäfte bzw. Präparate ab. Die Viruskonzentrationen waren nach den jahreszeitlichen Wachstumsbedingungen und

dem Alter der Pflanzen verschieden. Deshalb ergaben zu verschiedenen Zeiten durchgeführte Reaktionen des öfteren unterschiedliche Ergebnisse. Andererseits scheinen, wie bereits früher vermutet (BERCKS 1961), auch individuelle Unterschiede zwischen Seren mit gleichem oder ähnlichem homologen Titer auftreten zu können.

Die Titer der verwendeten XV-Seren lagen zwischen 1 : 64 und 1 : 64 000. Sehr schwache Seren (Titer 1 : 64) reagierten nicht heterolog. Mit starken Seren erreichten wir heterologe Reaktionen bis zu einem Titer von 1 : 128 beim WKMV und 1 : 64 beim HyV. Aus der großen Zahl der durchgeführten Untersuchungen gibt Tabelle 2 ein Beispiel für die Reaktion eines

Tabelle 1

Übersicht über die Ergebnisse

Serum	Antigen		
	XV	HyV	WKMV
XV	+	+	+
HyV	+	+	—
WKMV	+	+	+

Tabelle 2

Reaktion eines XV-Serums mit WKMV im Tropfentest

XV-Serum Titer 1 : 32 000	WKMV			
	2	8	16	64
K	3/4	3	3	3
2	3	3	2/3	3
4	2	2	2	3
8	3	3	3	3
16	2	2/3	2	2
32	1	1	0/1	0/1
64	0	0	0	0

Tabelle 3

Reaktion eines XV-Serums mit HyV im Röhrchentest

Ablesung nach 2 Stunden

XV-Serum Titer 1 : 8000	HyV				
	2	4	8	16	32
2	1	1	1	0	0
4	1	1	1	1	0
8	0	0	0	0	0

hochtitrigen XV-Serums mit WKMV und Tabelle 3 ein Beispiel für eine verhältnismäßig schwache Reaktion mit HyV.

Nach einigen Versuchen mit alten Seren mußte mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß derartige Seren die Fähigkeit zu heterologen Reaktionen verlieren. Aus diesem Grunde wurde ein XV-Serum aus dem Jahre 1949 mit dem Titer von 1 : 512, das in wiederholten Versuchen nicht mit WKMV reagierte, durch Ammonsulfatfällung konzentriert. Nach der Fällung hatte das Serum einen Titer von 1 : 4096 und reagierte mit WKMV bis zur Serumverdünnung von 1 : 4.

Es konnte nicht festgestellt werden, daß die Art der Konservierung der Seren irgendeinen Einfluß auf ihr Verhalten hatte.

Um zu verhindern, daß unterschiedliche Antigengehalte den Ausfall der Reaktionen beeinträchtigten, wurden Prüfungen mit 13 verschiedenen XV-Seren vorgenommen. Dabei prüften wir sämtliche Seren im Röhrchentest mit jeweils den gleichen Säften von XV-, HyV- und WKMV-kranken Pflanzen. Aus Mangel an Serum mußte in zwei Fällen auf die Prüfung mit WKMV und in einem Fall auf die Prüfung mit HyV verzichtet werden. Die homologen Titer lagen zwischen 1 : 256 und 1 : 16 384. In Abbildung 4 sind die Seren in der Reihenfolge der homologen Titer angeordnet. In diesem Versuch, dessen Wiederholung die gleichen Ergebnisse brachte, gaben auch schwache Seren heterologe Reaktionen. In der allgemeinen Tendenz wurden die heterologen Titer mit der Zunahme der homologen Reaktion stärker. Es zeigte sich aber auch, daß der Anstieg der heterologen Titer nicht stetig war. Im übrigen waren die Reaktionen mit HyV meistens etwas schwächer als mit WKMV.

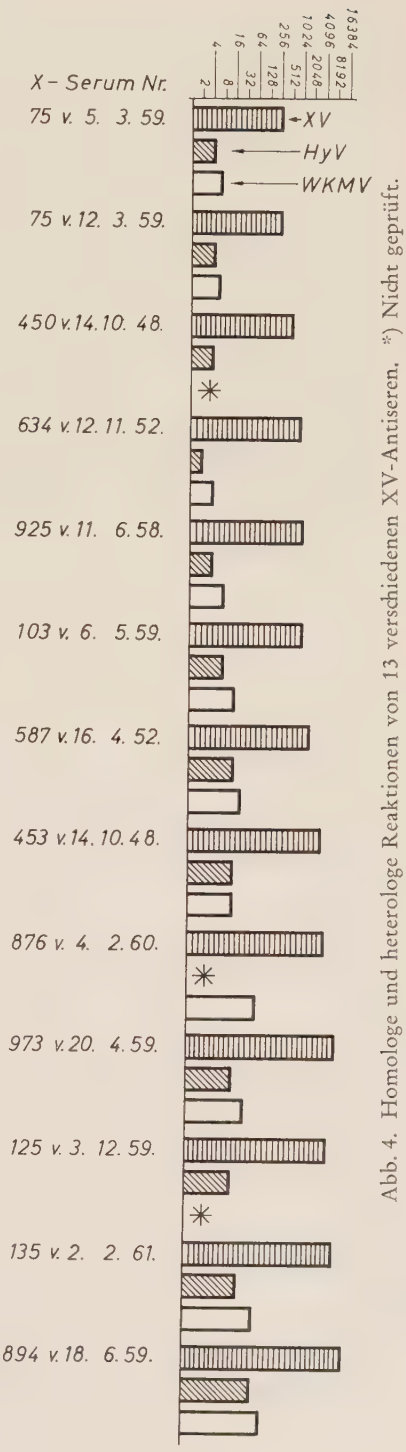

Abb. 4. Homologe und heterologe Reaktionen von 13 verschiedenen XV-Antiseren. *) Nicht geprüft.

Als Beispiel für das Verhalten der WKMV-Seren gegen XV und HyV sind in Tabelle 4 die Reaktionen von drei zu verschiedenen Zeiten dem Versuchstier entnommenen Proben eines Serums dargestellt. Der homologe Titer der ersten Probe betrug 1 : 8192, der der zweiten 1 : 4096 und der der dritten 1 : 1024. Die heterologen Titer nahmen parallel zu den homologen ab. Die Reaktionen mit HyV waren im allgemeinen schwächer als mit XV. In einem extremen Fall reagierte ein anderes WKMV-Serum mit einem Titer von 1 : 8192 nicht mit dem HyV, während eine Reaktion mit XV bis zu einer Serumverdünnung von 1 : 64 zu beobachten war. Als weiteres Beispiel zeigt Tabelle 5 die Reaktion eines WKMV-Serums gegen XV.

Die für die Prüfung gegenüber XV verwendeten HyV-Antiseren hatten Titer von 1 : 512 bis 1 : 32 768. Die stärksten heterologen Reaktionen erreichten einen Wert von 1 : 64. Das Serum mit dem homologen Titer von 1 : 512 reagierte heterolog bis 1 : 8. In Tabelle 6 ist die Reaktion eines Serums mit dem Titer von 1 : 8192 wiedergegeben.

Für die Reaktionen mit WKMV verwendeten wir bislang nur Hy-Seren mit dem höchsten Titer 1 : 8192. Sie reagierten, wie eingangs erwähnt, nicht mit WKMV.

Tabelle 4

Reaktionen von 3 Proben eines WKMV-Serums mit XV und HyV im Tropfentest

WKMV-Serum Nr. 117		XV				HyV			
		2	8	16	64	2	8	16	64
Blutentnahme	K	3	3	2	3	2	2	2	2
28. 12. 1959	2	3	3	2	2	1	2	1	1
Titer 1 : 8192	4	2	2	2	2	0	0	0	0
	8	1	2	2	1	0	0	0	0
	16	0/1	1	1	0/1				
	32	0	0	0	0				
	64	0	0	0	0				
Blutentnahme	K	2	2	1	1	1	1	0/1	0/1
10. 1. 1960	2	2	2	1	1	0	0/1	0/1	0
Titer 1 : 4096	4	1	1	1	1	0	0	0	0
	8	0/1	0/1	1	1				
	16	0	0	0	0				
	32	0	0	0	0				
Blutentnahme	K	2	2	1	1	0	0	0/1	0
9. 2. 1960	2	0/1	0/1	0/1	0	0	0	0	0
Titer 1 : 1024	4	0/1	0/1	0	0				
	8	0	0	0	0				
	16	0	0	0	0				

Tabelle 5
Reaktion eines WKMV-Serums mit XV im Tropfentest

WKMV-Serum Titer 1 : 8000	XV					
	8	16	32	64	128	256
2	3	3	3	2	2	0/1
4	3	2	2	2	0/1	0/1
8	3	2	3	2	1	0/1
16	2	2	2	1	0/1	$\frac{0}{0}$
32	1	1	1	0/1	0/1	$\frac{0}{0}$
64	0	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	0/1	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$
128	0	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	0	$\frac{0}{0}$	0

Tabelle 6
Reaktion eines HyV-Serums mit XV im Tropfentest

HyV-Serum Titer 1 : 8192	XV					
	8	16	32	64	128	256
2	3	2	1	1	1	0/1
4	3	2	1	1	1	0/1
8	3	2	2	1	1	$\frac{0}{0}$
16	2	2	2	1	1	$\frac{0/1}{0}$
32	0/1	0/1	1	0/1	0/1	$\frac{0}{0}$
64	$\frac{0}{0}$	0/1	0/1	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$
128	$\frac{0}{0}$	0	0	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$	0

IV. DISKUSSION

Aus der Literatur ist bekannt und durch eigene Prüfungen bestätigt, daß sich die für die serologischen Versuche benutzten Wirtspflanzen jeweils nur durch eines der drei untersuchten Viren infizieren lassen. Lediglich bei *Primula malacoides* ist auch eine lokale Infektion durch XV möglich. Aus diesem Grunde können die gewonnenen Ergebnisse nicht durch Mischinfektionen vorgetäuscht sein. Da die jeweils durchgeführten Kontrollen mit gesunden Pflanzen und Normalserum einwandfrei waren, können die Reaktionen auch nicht durch Normal-Proteine hervorgerufen worden sein. Ferner sei daran erinnert, daß in einer früheren Arbeit (Bercks 1961) eine größere Zahl von heterologen Reaktionen mit Viren, zwischen denen keine Beziehungen vermutet werden konnten, durchgeführt wurden und negativ verliefen; darunter befanden sich auch XV und WKMV.

Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen fand Hollings (1958) keine serologische Beziehung zwischen HyV und XV. Für das von ihm verwendete HyV-Antiserum wird ein Titer von 1 : 160, und für XV-Serum werden Titer von 1 : 640 und 1 : 320 angegeben. Bos et al. (1959) erhielten bei reziproken

serologischen Prüfungen zwischen WKMV und XV ebenfalls keine positiven Ergebnisse. Die von den Autoren angegebenen Titer der WKMV-Seren betrugen im allgemeinen nur 1 : 64.

Wir haben schon früher betont (BERCKS 1961), daß bei reziproken serologischen Untersuchungen zwischen verschiedenen Viren, die weitläufig miteinander verwandt sind, die Verwendung möglichst hochtitriger Antiseren vorteilhaft und oft auch notwendig ist. Es ist also möglich, daß die negativen Resultate bei HOLLINGS und BOS et al. durch die verhältnismäßig niedrigen Titer der von ihnen verwendeten Seren zu erklären sind.

Unsere Ergebnisse liefern ein weiteres Beispiel dafür, daß verwandtschaftliche Beziehungen zwischen elektronenmikroskopisch unterscheidbaren Viren bestehen können. Frühere Untersuchungen haben dies bereits für Rübenmosaik-Virus, Kartoffel-Y-Virus und *Phaseolus* Virus 2 ergeben (BERCKS 1960 b, 1961). Die ersten diesbezüglichen Angaben wurden von WETTER et al. (1958, 1959) bei Reaktionen zwischen pea streak virus und red clover vein mosaic virus gemacht. Bei den Prüfungen dieser Autoren konnte allerdings eine beiderseitige Verunreinigung nicht völlig ausgeschlossen werden. Nach neueren, unveröffentlichten Untersuchungen von WETTER (mündl. Mitt.) handelt es sich jedoch um echte Verwandtschaftsreaktionen.

Damit sind bisher in drei Fällen zwischen benachbarten Gruppen des von BRANDES und WETTER (1959) aufgestellten Klassifikationsschemas serologische Beziehungen festgestellt worden, die als Zeichen einer Verwandtschaft anzusehen sind.

Die Untersuchungen unterstützen die mehrfach geäußerte Ansicht, daß es möglich ist, Virus-Arten zu höheren systematischen Einheiten zusammenzufassen. KASSANIS (1961) hat kürzlich für Kartoffel-S-Virus, Paracrinkle-Virus und carnation latent virus vorgeschlagen, sie als Serotypen zu bezeichnen und unter der Bezeichnung potato leaf-rolling mosaic virus zusammenzufassen. Wenngleich der Begriff Serotyp in manchen Fällen angebracht sein mag, so ist doch zu bedenken, daß damit nur e i n Unterscheidungsmerkmal gekennzeichnet wird. Bei Viren, die sich in ihrer Normallage unterscheiden aber trotzdem serologisch verwandt sind, erscheint uns die Bezeichnung Serotyp nicht angebracht, zumal wenn darüber hinaus Unterschiede in anderen Eigenschaften (wie in unserem Falle besonders im Wirtspflanzenkreis) bestehen. Wir zweifeln nicht daran, daß WKMV, HyV und XV einen gemeinsamen Ursprung haben und schlagen deshalb vor, sie als selbständige Viren innerhalb einer systematischen Gruppe anzusehen.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Zusammenfassung

Durch serologische Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß Kartoffel-X-Virus (XV), Hydrangea ringspot virus (HyV) und Weißkleemosaik-Virus (WKMV) miteinander verwandt sind. Antiseren gegen jedes der drei Viren mit ausreichend hohem Titer gaben positive heterologe Reaktionen mit

den anderen beiden Partnern. Eine Ausnahme bildeten die HyV-Seren (das beste mit einem Titer von 1 : 8192), die nicht mit WKMV reagierten.

Wenn relativ niedrigtitrige Seren verwendet wurden, waren in verschiedenen Fällen keine heterologen Reaktionen zu beobachten.

In den Kontrollen mit Normalseren und Säften gesunder Pflanzen wurden keine Präzipitin-Reaktionen erhalten.

Ein XV-Antiserum (Titer 1 : 512), das keine heterologen Reaktionen zeigte, reagierte mit WKMV bis zu einer Verdünnung von 1 : 4, nachdem es durch Ammoniumsulfat-Fällung konzentriert worden war (Titer 1 : 4096).

13 XV-Seren mit unterschiedlichem Titer reagierten heterolog mit HyV und WKMV, wobei das Verhältnis von homologem und heterologem Titer ziemlich gut übereinstimmte. Allerdings scheinen auch individuelle Unterschiede zwischen den Seren zu bestehen.

Nach den elektronenmikroskopischen Messungen ist es möglich, zwischen XV, HyV und WKMV zu unterscheiden. Folgende Normallängen wurden bestimmt: 513 mμ (XV), 493 mμ (HyV) und 478 mμ (WKMV). In der Gestalt und der Dicke der Partikeln konnten keine Unterschiede festgestellt werden.

Unsere Ergebnisse liefern ein weiteres Beispiel für serologische Verwandtschaft zwischen Viren verschiedener Größe. Wir schlagen vor, XV, HyV und WKMV als selbständige Viren innerhalb einer systematischen Gruppe anzusehen.

Summary

Serological relationship has been found between potato virus X (XV), Hydrangea ringspot virus (HyV), and white clover mosaic virus (WKMV). Antisera against each of the three viruses with sufficient high titers gave positive heterologeous cross-reactions with the other two partners, except HyV-antisera, the best of which with a titer of 1 : 8192, which did not react with WKMV. Some examples at the numerous cross-reactions are given in the tables 2—6.

Using relatively low-titered antisera in several cases no cross-reactions with the heterologeous partners have been obtained.

In control-experiments with normal-sera and juices of healthy plants no precipitin reactions could be observed.

One XV-antiserum (titer 1 : 512) which showed no heterologeous reactions, reacted with WKMV up to a dilution of 1 : 4 after it had been concentrated by ammonium sulphate precipitation (titer 1 : 4096).

13 XV-antisera with different titers reacted heterologeously with HyV and WKMV and the increase of the homologeous reactions was connected with a rather similar increase of the heterologeous ones although apparently some individual differences of the antisera are present (fig. 4).

According to the electron microscopic measurements it is possible to differentiate between XV, HyV, and WKMV. The normal lengths evaluated are 513 mμ (XV), 493 mμ (HyV), and 478 mμ (WKMV) respectively. No

differences of the shapes and the diameters of the three viruses could be observed.

The findings give further evidence of serological relationship between viruses of slightly different size. It is suggested to regard XV, HyV, and WKMV as seperate viruses within one systematic group.

Literaturverzeichnis

Bancrofft, J. B., J. Tuite and G. Hissong, 1960: Properties of white clover mosaic virus from Indiana. Phytopathology **50**, 711—717.

Bercks, R., 1960: Serologische Untersuchungen zur Differenzierung von Isolaten des *Phaseolus*-Virus 2 und ihre Verwandtschaft mit *Phaseolus*-Virus 1. Phytopath. Z. **39**, 120—128.

— —, 1960: Serological relationship between beet mosaic virus, potato virus Y, and bean yellow mosaic virus. Virology **12**, 311—313.

— —, 1961: Serologische Verwandtschaft zwischen Kartoffel-Y-Virus, Rübenmosaik-Virus und *Phaseolus*-Virus 2. Phytopath. Z. **40**, 357—365.

Bode, O., und H. L. Paul, 1955: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Kartoffel-Viren. I. Vermessungen an Teilchen des Kartoffel-X-Virus. Biochim., biophys. Acta **16**, 343—345.

Bos, L., B. Delević and J. P. H. van der Want, 1959: Investigations on white clover mosaic virus. T. Plantenziekten **65**, 89—106.

— —, D. Z. Maat, J. B. Bancroft, A. H. Gold, M. J. Pratt, L. Quantz and H. A. Scott, 1960: Serological relationship of some European, American, and Canadian isolates of the white clover mosaic virus. T. Plantenziekten **66**, 102—106.

Brandes, J., 1957: Eine elektronenmikroskopische Schnellmethode zum Nachweis faden- und stäbchenförmiger Viren, insbesondere in Kartoffeldunkelkeimen. Nachr.bl. dtsch. Pfl.schutzd., Braunschweig, **9**, 151—152.

— —, 1961: Einige Bemerkungen über den Nachweis von Kartoffelviren mit Hilfe des Elektronenmikroskops. Proc. 4th Conf. Potato Virus Dis., Braunschweig, 1960, 170—175.

— —, und L. Quantz, 1957: Elektronenmikroskopische Untersuchung des Weißkleevirus und des Steinkleevirus. Arch. Mikrobiol. **26**, 369—372.

— —, and C. Wetter, 1959: Classification of elongated plant viruses on the basis of particle morphology. Virology **8**, 99—115.

Fry, P. R., R. G. Grogan and J. W. Lyttleton, 1960: Physical and chemical properties of clover mosaic virus. Phytopathology **50**, 175—177.

Hollings, M., 1958: Hydrangea ringspot in Britain. J. hortic. Sci. **33**, 275—281.

Kassanis, B., 1961: Potato paracrinkle virus. Europ. Potato J. **4**, 14—25.

Pfankuch, E., und G. A. Kausche, 1938: Über Darstellung, Eigenschaften und quantitative Bestimmung von Tabakmosaikvirus und Kartoffel-X-Virus und ihre physiko-chemische Differenzierung. Biochem. Z. **299**, 334—345.

Sisler, H. D., S. C. Chang, R. L. Reagan and P. Brierley, 1957: Purification and properties of Hydrangea ringspot virus. Phytopathology **47**, 491—494.

Slogteren, D. H. M. van, 1955: Serological microreactions with plant viruses under paraffin oil. Proc. 2nd Conf. Potato Virus Dis., Lisse-Wageningen, 1954, 51—54.

Wetter, C., 1960: Partielle Reinigung einiger gestreckter Pflanzenviren und ihre Verwendung als Antigene bei der Immunisierung mittels Freundschen Adjuvans. Arch. Mikrobiol. **37**, 278—292.

— —, und L. Quantz, 1958: Serologische Verwandtschaft zwischen Steinkleevirus, Stauchevirus der Erbse und Wisconsin pea streak-Virus. Phytopath. Z. **33**, 430—432.

— —, — —, und J. Brandes, 1959: Verwandtschaft zwischen dem Stauchevirus der Erbse und dem Rotkleeadernmosaik-Virus (red clover vein mosaic virus). Phytopath. Z. **35**, 201—204.

Aus der Biologischen Zentralanstalt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Institut für Phytopathologie Aschersleben
(Direktor: Prof. Dr. M. Klinkowski)
und dem Forschungsinstitut für Gartenbau, Budapest
(Direktor: Dr. L. Elek)

Das Bandmosaik der Erdbeere

Von
H. Maassen und Mária Németh

Mit 2 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — A. Das Krankheitsbild. — B. Versuche zur Übertragung der Krankheit durch Pfropfung. — C. Maßnahmen zur Bekämpfung der Krankheit. — Diskussion. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

EINLEITUNG

In Ungarn werden seit einiger Zeit an Pflanzen der Sorte „Hl. Anton von Padua" virusverdächtige Krankheitserscheinungen beobachtet. Die Untersuchungen zum Nachweis der virösen Natur dieser Erscheinungen wurden im Sommer 1960 aufgenommen. Die zu den Untersuchungen verwendeten Pflanzen der Sorte „Hl. Anton von Padua" stammten von der Versuchswirtschaft Elvira-major bei Budapest. Die Sorte ist älteren Ursprungs und heute nur noch in Sortimenten bzw. sporadisch in Hausgärten anzutreffen.

A. Das Krankheitsbild

Das Krankheitsbild der Pflanzen ist gekennzeichnet durch die Bildung von chlorotischen Verfärbungen der Blätter. Sie sind bandförmig und in den meisten Fällen entlang den Adern lokalisiert. Es können auch andere Gewebepartien der Blattspreite Chlorosen zeigen. Diese Verfärbungen verlaufen gleichfalls meistens bandförmig. In anderen Fällen verleihen sie dem Blatt eine mosaikartige Zeichnung. Gelegentlich entwickeln die Pflanzen Blätter ohne Symptome, erst die Folgeblätter lassen wieder chlorotische Blattverfärbungen erkennen. Abbildung 1 zeigt eine natürlich infizierte, stark verkümmerte Pflanze dieser Sorte mit bandmosaikartigen Symptomen. Die Blätter sind zusätzlich deformiert, ihre Spreiten zum Teil nicht ausgebildet.

B. Versuche zur Übertragung der Krankheit durch Pfropfung

Als Indikator für diese Untersuchungen wurden gesund aussehende Pflanzen der Sorte „Hl. Anton von Padua" verwendet und zwei Pflanzen klonweise vermehrt. Prüfungen der Ausgangspflanzen durch *Pentatrichopus fragaefolii* Cock. auf nichtpersistente Viren durch Übertragung auf *Fragaria vesca* L. ergaben keinen Virusbefall. Alle Pflanzen dieser Klone zeigten im bisherigen Wachstumsverlauf kräftigen Wuchs und normal gestaltete Blätter von dunkelgrüner Farbe. Im Juni und Juli wurde versucht, zwei gesunde Pflanzen von je einem Klon durch Pfropfung mit den kranken Pflanzen zu infizieren. Als Pfropfmethode kam die von BRINGHURST und VOTH (1956) beschriebene Blattstielpfropfung in modifizierter Form zur Anwendung (MAASSEN 1960). Die Zahl der aufgepfropften Blätter betrug drei bzw. fünf. Vier Wochen nach der Pfropfung waren von fünf noch vier aufgepfropfte Blätter grün, im anderen Fall noch alle drei.

Abb. 1. Sorte „Hl. Anton von Padua", natürlich infiziert; photogr.: 13. Juli 1960

Die ersten Symptome auf den Pflanzen traten drei bis vier Wochen nach der Pfropfung auf. Die jüngsten Blätter zeigten zunächst nur stellenweise schwache chlorotische Verfärbungen entlang den Adern. Diese Symptome waren auf den Folgeblättern stärker ausgeprägt. Zusätzlich bildeten sich chlorotische Flecke unterschiedlicher Größe und Form (Abb. 2). Die Blätter erschienen kleiner und gelegentlich deformiert. Die Kontrollpflanzen ließen keine Krankheitserscheinungen erkennen.

Abb. 2. Sorte „Hl. Anton von Padua", links: experimentell infiziert, 14. Juni 1960, rechts: gesunde Kontrolle; photogr.: 20. September 1960

Neben Pflanzen der Sorte „Hl. Anton von Padua" wurde versucht, zwei Pflanzen der Sorte „Müncheberger Frühe" und zwölf Pflanzen von *Fragaria vesca* L., Klon Aschersleben bzw. Klon East Malling durch Blattstielpfropfung zu infizieren. Bei den Pfropfungen der Sorte „Müncheberger Frühe" und von drei *Fragaria vesca*-Pflanzen wurden Blätter von Pflanzen verwendet, die sechs Wochen vorher experimentell infiziert worden waren und deutliche Symptome zeigten. Die übrigen Pflanzen wurden mit kranken Blättern von natürlich infizierten Pflanzen gepfropft. Die Sorte „Müncheberger Frühe" reagierte auf diese Infektionen mit schwachen Symptomen. Sie waren charakterisiert durch das Auftreten von Vergilbungen einzelner Nebenadern. Zeitweise zeigten die jüngsten Blätter keine Symptome, Folgeblätter ließen jedoch wieder schwache Krankheitsmerkmale erkennen. Rückübertragungsversuche auf die Testsorte „Hl. Anton von Padua" verliefen positiv.

Bei den zwölf gepfropften *Fragaria vesca* konnten keine Symptome festgestellt werden. Rückübertragungsversuche mit einigen *Fragaria vesca*-Pflanzen, deren aufgepfropfte Blätter noch nach drei Monaten grün waren, verliefen negativ.

Gleichfalls erfolglos verliefen bisherige Versuche zur mechanischen Übertragung dieses Virus unter Zusatz einer Kaliumphosphatlösung zum Preßsaft auf *Cucumis sativus* L., *Datura stramonium* L., *Petunia hybrida* hort. ex Vilm., *Phaseolus vulgaris* L. und *Vigna sinensis* Savi ex Hassk.

C. Maßnahmen zur Bekämpfung der Krankheit

Die deutlichen Krankheitserscheinungen der Sorte „Hl. Anton von Padua" gestatten eine Bereinigung der Bestände durch negative Auslese. Es ist daher zu empfehlen, alle Pflanzen mit den vorstehend genannten Krankheitserscheinungen aus den Sortimenten und den Hausgärten zu entfernen und zu vernichten. Positiv selektierte Mutterpflanzen sind wegen der zeitweiligen Symptommaskierung wiederholt auf charakteristische Krankheitserscheinungen zu überprüfen. Zur Vermehrung sollten grundsätzlich nur Jungpflanzen von gesund aussehenden Mutterpflanzen Verwendung finden. Als prophylaktische Maßnahme schlagen wir vor, während der Vegetationszeit mehrmals eine 0,3%ige Wofatox-Spritzung durchzuführen. Die Spritzungen dürfen, wegen der damit verbundenen Vergiftungsgefahr für den Menschen, nicht zur Zeit der Fruchtbildung erfolgen.

DISKUSSION

Die Reproduzierung der Krankheitserscheinungen der Sorte „Hl. Anton von Padua" auf gesund aussehende Pflanzen dieser Sorte beweist die Virusnatur dieser Krankheit. Derartige Krankheitserscheinungen wurden bisher in Deutschland an Kultursorten nicht gefunden und sind auch von Kultursorten in anderen Ländern nicht bekannt.

Dem Bandmosaik ähnliche Symptome werden durch das „veinbanding"-Virus hervorgerufen (FRAZIER 1955). Seine Benennung erfolgte auf Grund der charakteristischen Symptome auf *Fragaria vesca*. Das Virus wurde von der Kultursorte „Marshall" isoliert, die selbst keine derartigen Krankheitserscheinungen zeigte. Entsprechend den typischen Symptomen an der Sorte „Hl. Anton von Padua" und der Tatsache, daß sie von anderen Kultursorten nicht bekannt sind, wird vorgeschlagen, diese Krankheit als „Bandmosaik der Erdbeere" zu bezeichnen.

Nach augenscheinlicher Beurteilung sind in Ungarn in Sortimenten und Hausgärten schätzungsweise 35 % der Pflanzen infiziert.

Besondere Aufmerksamkeit verdient die Tatsache, daß es bisher nicht gelang, durch dieses Virus an *Fragaria vesca*-Pflanzen Symptome hervorzurufen. In weiteren Versuchsserien ist dieser Frage Beachtung beizumessen, da *Fragaria vesca* als Testpflanze zur Bereinigung von Erdbeerbeständen allgemein verwendet wird. Des weiteren bleiben die Frage der Übertragbarkeit dieses Virus, seine Wirkung auf Pflanzenwachstum und Ertrag sowie die Anfälligkeit weiterer Kultursorten zu untersuchen.

Zusammenfassung

In Ungarn treten an der Sorte „Hl. Anton von Padua" Krankheitserscheinungen auf, die durch das Auftreten von bandmosaikartigen Verfärbungen gekennzeichnet sind. In Übertragungsversuchen auf gesunde Pflanzen dieser Sorte gelang es, diese Krankheitserscheinungen durch Blattstielpfropfung als virusbedingt nachzuweisen. Die Inkubationszeit betrug drei bis vier Wochen. Das Virus war auch auf Pflanzen der Sorte „Müncheberger Frühe" übertragbar. Diese zeigten nach Infektionen schwache Vergilbungen einiger Nebenadern. Auf *Fragaria vesca* L. traten in zwölf Pfropfversuchen keine Symptome auf. Versuche zur mechanischen Übertragung des Virus verliefen ergebnislos.

Die Sorte „Hl. Anton von Padua" ist in Ungarn in Sortimenten und sporadisch in Hausgärten anzutreffen, wo schätzungsweise 35 % der Pflanzen Symptome des Bandmosaik zeigen. Derartige Symptome wurden bisher an Kultursorten in Deutschland und in anderen Ländern nicht festgestellt. Nach den charakteristischen Krankheitsmerkmalen wird diese Virose als „Bandmosaik der Erdbeere" bezeichnet.

Zur Bekämpfung werden die negative Auslese infizierter Pflanzen, die Verwendung von gesunden Pflanzen bei Neuanpflanzungen sowie prophylaktisch die Bekämpfung der Blattläuse durch wiederholte 0,3%ige Wofatoxspritzungen empfohlen.

Summary

In Hungary disease symptoms which take the form of discolorations in the form of mosaic bands occur in the variety "St. Anthony of Padua". In

tests of transmission on to healthy plants of this variety it was possible to demonstrate these disease manifestations by means of petiole grafts, as being conditioned by a virus. The incubation time amounted to 3 to 4 weeks. The virus could be transmitted also to plants of the variety "Müncheberg Early". After infection these plants showed slight yellowing of some of the lateral veins. On *Fragaria vesca* L. no symptoms occurred in 12 grafting tests. Attempts to transmit the virus mechanically were without result.

The variety "St. Antony of Padua" is found in Hungary in collections and sporadically in private gardens, where the proportion of plants showing symptoms of banding mosaic is estimated as 35 %.

Such symptoms have not so far been found on cultivated varieties in Germany and in other countries. On account of the characteristic symptoms of the disease the virus is referred to as "strawberry banding mosaic".

As control measures, negative selection of infected plants, the use of healthy plants for new plantations and prophylactic control of aphids by repeated spraying with 0,3 % solutions of Wofatox are recommended.

Literaturverzeichnis

Bringhurst, R. S., and V. Voth, 1956: Strawberry virus transmission by grafting excised leaves. Plant Dis. Reptr. **40**, 596—600.

Frazier, N. W., 1955: Strawberry vein banding virus. Phytopathology **45**, 307—312.

Maassen, H., 1960: Methoden zur Pfropfung von Kulturerdbeeren zum Nachweis von Virusinfektionen. Der Deutsche Gartenbau **7**, 206—207.

Biologische Zentralanstalt
der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin,
Institut für Phytopathologie Aschersleben
(Direktor: Prof. Dr. M. Klinkowski)

Untersuchungen über den Stoffwechsel viruskranker Pflanzen

II. Aktivitätsbestimmungen einiger Enzyme in Kotyledonen viruskranker Gurkenpflanzen

Von

H. Opel, H. Wolffgang und H. Kegler

Mit 4 Abbildungen

Inhalt: I. Material und Methoden. — II. Ergebnisse. 1. Ribonuclease und Phosphatase. 2. Polyphenoloxydase und Peroxydase. — III. Diskussion. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

Über Aktivitätsbestimmungen von Enzymen viruskranker Pflanzen ist in den letzten Jahren mehrfach berichtet worden (Henke 1957, Martin 1958, Wolffgang und Keck 1958, Boser 1958, 1959, Reddi 1959, Solymosy, Farkas und Király 1959, Farkas, Király und Solymosy 1960, Kikuchi und Yamaguchi 1960, Kegler, Opel und Herzmann 1961, Opel 1961). Die Untersuchungen erfolgten an verschiedenen Virus-Wirt-Kombinationen und teilweise in verschiedenen Phasen der Pathogenese. Die Ergebnisse lassen sich daher nur in beschränktem Maße vergleichen. Es kann vor allem nicht festgestellt werden, in welcher Reihenfolge die Aktivitätsänderungen verschiedener Enzyme einsetzen und in welcher Beziehung sie zur Pathogenese stehen. Untersuchungen über einen längeren Zeitabschnitt des Krankheitsverlaufes liegen nur für wenige Enzyme vor. In der vorliegenden Arbeit sollen diese Beziehungen für mehrere Enzyme an einer Virus-Wirt-Kombination untersucht werden, um Hinweise dafür zu bekommen, welcher Vorgang Ursache bzw. Wirkung ist. Die in unserer ersten Mitteilung (Wolffgang und Keck 1958) gewählte Wirtspflanze *Nicotiana tabacum* L. var. Samsun mußte wegen des Tabakblauschimmels vorläufig aufgegeben werden. Wir benutzten daher Gurkenkeimlinge, die ein sehr einheitliches Material bieten und deren Kotyledonen bei Abreibungen mit Steinobstviren (Virus der Pfeffinger Krankheit und Virus der Stecklenberger Krankheit) nach wenigen Tagen Primärläsionen

ausbilden. Wir untersuchten nur die lokalen Reaktionen der Kotyledonen und nicht die später einsetzende systemische Erkrankung der Laubblätter.

I. MATERIAL UND METHODEN

Wir verwendeten Gurkenpflanzen *(Cucumis sativus* L.) der Sorte „Delikateß". Die Pflanzen wurden durch Abreiben der Kotyledonen mit virushaltigen Preßsäften (zwischen 7.30 Uhr und 9.30 Uhr) infiziert, wenn die Primärblätter etwa 3 mm Länge erreicht hatten. Als Kontrollen dienten Pflanzen, die unbehandelt waren (in den ersten Versuchsserien) oder mit Preßsäften aus gesunden Pflanzen abgerieben wurden, um Beeinflussungen der Enzymaktivitäten durch Abreibeeffekte zu vermeiden. Wir verwerteten für jeden Meßpunkt unserer Kurven 100 Kotyledonen aus 100 Pflanzen, um auf diese Weise biologische Schwankungen weitgehend auszuschalten. Infizierte Pflanzen und Kontrollen wuchsen unter gleichen Gewächshausbedingungen. Als Viren dienten uns das Virus der Pfeffinger Krankheit (PfV), Herkunft Schweiz, und das Virus der Stecklenberger Krankheit (StV), Herkunft Stecklenberg 373 a.

Extraktbereitung

100 Keimblätter von 100 Pflanzen wurden gewogen, in Fit-Wasser[1]) abgewaschen, mehrmals in destilliertem Wasser gespült, zerschnitten und vier Minuten mit etwa der gleichen Menge zweifach destilliertem Wasser (ml/g) bei 23 000 U/Min. homogenisiert.

Um Schaumbildung zu verhindern, wurden zwei Tropfen Decylalkohol zugegeben. Das Homogenat wurde dann über ein mittelhartes Filter abgenutscht und der Rückstand mit etwas Quarzsand in einer Reibschale zerrieben und wieder extrahiert. Alle Gefäße für die Extraktbereitung wurden mit zweifach destilliertem Wasser nachgewaschen, so daß am Ende zwei Teile zweifach destilliertes Wasser auf ein Teil Pflanzenmaterial kamen. Anschließend zentrifugierten wir Filtrat, Rückstand und Filter 20 Minuten bei 20 000 g in einer vorgekühlten Zentrifuge. Die Überstände wurden vereinigt und dienten als Ausgangsmaterial für die folgenden Enzymbestimmungen.

Bestimmung der Polyphenoloxydase-Aktivität

2 ml Extrakt wurden mit 1/15 mol Phosphatpuffer pH 6,8 auf 10 ml aufgefüllt.

Ansatz: 250 mg Pyrogallol in 90 ml frisch destilliertem Wasser gelöst,
+ 10 ml Phosphatpuffer nach Sörensen pH 6,8,
+ 2 ml des mit Puffer aufgefüllten Extraktes.

In Waschflaschen mit Glassintereinsatz wurde ein feinverteilter Luftstrom durch das Reaktionsgemisch geleitet und die Reaktion nach zehn Minuten mit 4 ml halbkonzentrierter Schwefelsäure abgestoppt. Das entstandene Purpurogallin wurde mit 50 ml Äther quantitativ extrahiert und im Pulfrich-Photometer mit Filter S 42 gemessen.

[1]) 1 Messerspitze „Fit" (VEB Fettchemie Karl-Marx-Stadt) auf 1 Liter destilliertes Wasser.

Bestimmung der Peroxydase-Aktivität

2 ml Extrakt wurden mit 1/15 mol Phosphatpuffer pH 6,4 (Sörensen) auf 10 ml aufgefüllt.

Ansatz: 250 mg Pyrogallol in 90 ml frisch destilliertem Wasser gelöst,
+ 10 ml 1/15 mol Phosphatpuffer nach Sörensen pH 6,4,
+ 2 ml des mit Phosphatpuffer aufgefüllten Extraktes,
+ 0,5 ml 0,5%iges Wasserstoffsuperoxyd.

Die weitere Verarbeitung des Reaktionsgemisches erfolgte wie für die Polyphenoloxydase beschrieben.

Bestimmung der Phosphatase-Aktivität

Zu 3 ml Extrakt wurde 1 ml Zitronensäure-Phosphat-Puffer nach McILOAINE (zit. bei D'ANS und LAX 1949) pH 6,0 (4fach konzentriert) zugegeben und hiervon je 1 ml zur Bestimmung der Phosphatase-Aktivität mit 1 ml 0,7%iger wäßriger Phenolphthaleinphosphatlösung versetzt. Die Reaktion erfolgte 1 h im Thermostaten bei 20 °C. Dann wurden 1 ml 0,2 n NaOH sowie 2 ml destilliertes Wasser zugesetzt und im Pulfrich-Photometer mit Filter S 55 gemessen.

Bestimmung der Ribonuclease-Aktivität

4,5 ml Extrakt wurden mit 1,5 ml 4/15 mol Phosphatpuffer nach SÖRENSEN, pH 7,4, verdünnt. Die Bestimmung erfolgte nach FIERS und STOCKX (1957).

Für alle Enzymaktivitätsbestimmungen dienten gleiche Mengen abgekochten Extraktes als Kontrollen. Die Versuche wurden in der Zeit von November 1959 bis November 1960 in sechs gleichartigen Versuchsreihen durchgeführt. Die Ergebnisse einer Versuchsreihe, die in den übrigen Untersuchungen bestätigt werden konnten, teilen wir nachfolgend mit.

II. ERGEBNISSE

1. Ribonuclease und Phosphatase

Die höchsten Ribonuclease-Aktivitäten wiesen junge Kotyledonen in den ersten Tagen nach dem Abreiben auf. Die Aktivitäten fielen dann mit zunehmendem Alter der Kotyledonen ab. Unterschiede zwischen gesunden und erkrankten Pflanzen ergaben sich nicht, oder sie waren nur sehr schwach. Stets war die altersbedingte Abnahme der Aktivitäten die auffälligste Änderung im Verlauf der Kurven (Abb. 1). Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten BARKER und DOUGLAS (1960) bei Untersuchungen an gesunden Erbsenkotyledonen. REDDI (1959) fand dagegen in älteren Tabakblättern höhere Aktivitäten als in jungen. Nach Infektion mit TMV wiesen die Pflanzen in Abhängigkeit von der Läsionenzahl und der gebildeten Virusmenge höhere Ribonuclease-Aktivitäten auf.

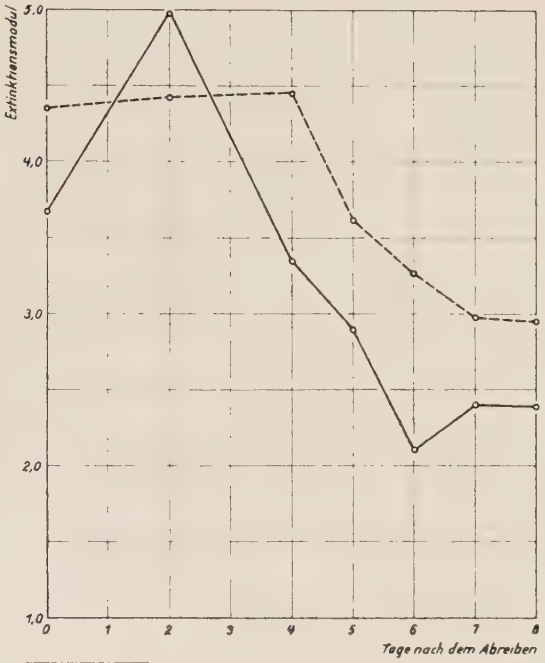

Abb. 1. Ribonucleaseaktivitäten gesunder o——o und mit dem Virus der Stecklenberger Krankheit infizierter Gurkenkotyledonen o------o (Versuch vom 27. Oktober bis 4. November 1960)

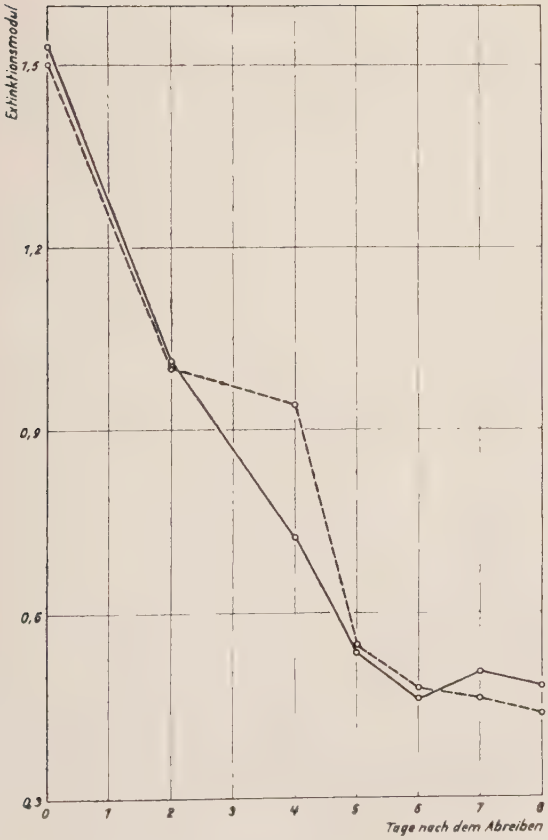

Abb. 2. Phosphataseaktivitäten gesunder c——o und mit dem Virus der Stecklenberger Krankheit infizierter Gurkenkotyledonen o------o (Versuch vom 27. Oktober bis 4. November 1960)

Die Phosphatase-Aktivität nahm in gesunden und infizierten Gurkenkotyledonen in gleichem Maße mit zunehmendem Alter ab. Unterschiede ergaben sich zwischen den beiden Versuchsvarianten nicht (Abb. 2).

2. Polyphenoloxydase und Peroxydase

Die Aktivitäten der Polyphenoloxydase und Peroxydase erhöhten sich mit Beginn der Symptomausbildung und erreichten ihre höchsten Werte im Maximum der Symptomausbildung. Das ist der Zeitpunkt, an dem entweder die chlorotischen Läsionen am stärksten ausgebildet sind (Abb. 3) oder kurz bevor sie nekrotisch werden (Abb. 4). Während der Versuchsreihe vom 16. bis 29. 2. 1960 kam es bei Infektionen mit dem PfV zur Ausbildung von Nekrosen. Die nekrotische Reaktion der zunächst chlorotischen Läsionen ist für das PfV nicht charakteristisch. Wir haben die Ergebnisse deshalb dargestellt, weil sich hier besonders deutlich die Stärke der Symptombildung in den sehr hohen Peroxydase- und Polyphenoloxydase-Aktivitäten widerspiegelt (Abb. 4). Nachdem die Nekrosen ausgebildet waren, kam es zu einem Abfallen der Aktivitäten, wahrscheinlich durch Enzymverluste innerhalb der abgestorbenen Gewebe. Die Peroxydase-Aktivitäten der gesunden Kotyledonen lagen am Versuchsende sogar etwas höher als bei kranken Pflanzen. Es ist möglich, daß diese geringen Peroxydase-Aktivitäten mit der verstärkten Chlorophyllsynthese am Rande der Nekrosen verbunden sind, denn nach Untersuchungen von SCHWARZE (1954) verhalten sich Chlorophyllsynthese und Peroxydase-Aktivität umgekehrt proportional.

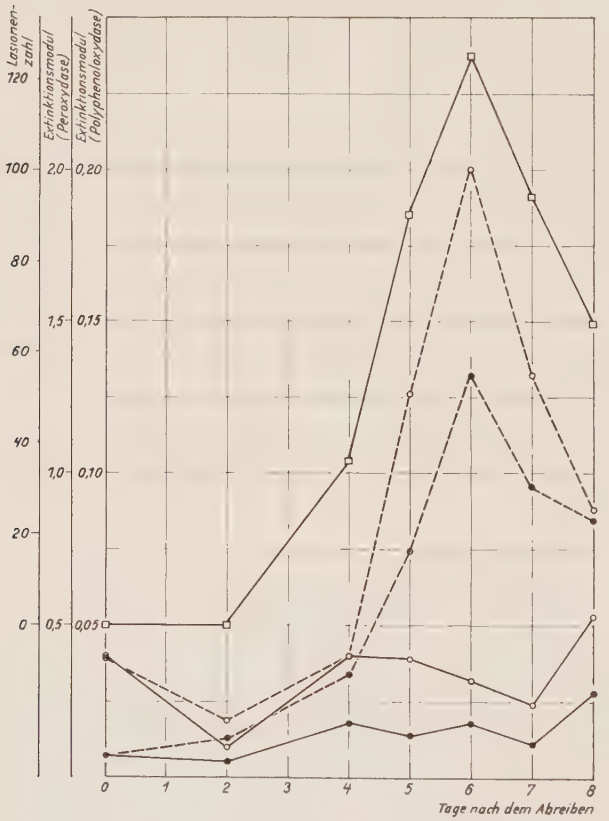

Abb. 3. Aktivitäten der Polyphenoloxydase gesunder o———o und mit dem Virus der Stecklenberger Krankheit infizierter Gurkenkotyledonen o--------o. Peroxydaseaktivitäten ●——● gesund, ●- - -● infiziert, □——□ Läsionenzahl
(Versuch vom 27. Oktober bis 4. November 1960)

In Abbildung 3 haben wir die Polyphenol- und Peroxydase-Aktivitäten zusammen mit der Läsionenzahl der untersuchten Kotyledonen dargestellt. Es handelt sich hierbei um chlorotische Läsionen nach Infektion mit dem StV. Im Gegensatz zu den relativ kleinen und scharf begrenzten Läsionen bei Infektion mit dem PfV, werden hier diffuse Läsionen ausgebildet, die größere Blattflächen erfassen. Das Maximum der Symptombildung fällt mit dem Maximum der Polyphenol- und Peroxydase-Aktivitätserhöhung zusammen. Die Kotyledonen bildeten keine Nekrosen aus. Das Absinken der Aktivitäten in den letzten Tagen der Versuchsserie resultierte aus dem charakteristischen Krankheitsverlauf StV-kranker Gurkenkeimlinge. Vom 6. Tage nach der Infektion beginnen einzelne Pflanzen zu kollabieren und können für die Enzymaktivitätsbestimmungen infolge dieses völligen Zusammenbruchs nicht mehr verwendet werden. Da vor allem Pflanzen mit starker Symptombildung kollabieren, stehen zwangsläufig am Ende der Versuchsserie Gurkenpflanzen mit geringerer Läsionenzahl zur Verfügung. Parallel hierzu sinken die Aktivitäten der Polyphenoloxydase und Peroxydase ab.

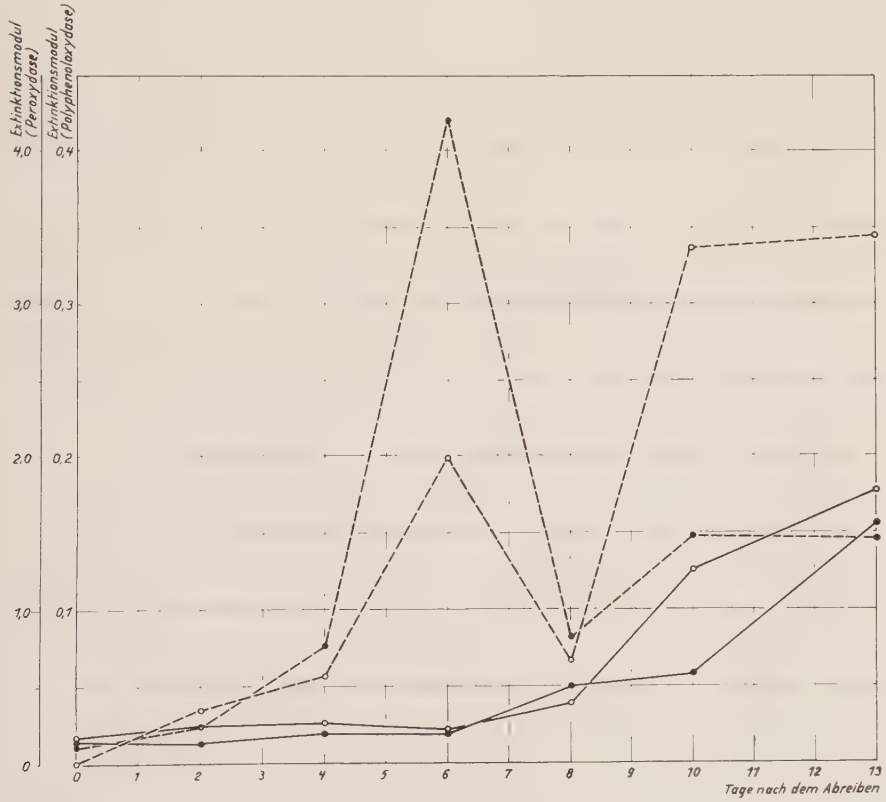

Abb. 4. Aktivitäten der Polyphenoloxydase gesunder o———o und mit dem Virus der Pfeffinger Krankheit infizierter Gurkenkotyledonen o--------o. Peroxydaseaktivitäten ●——● gesund, ●——● infiziert
(Versuch vom 16. Februar bis 29. Februar 1960)

III. DISKUSSION

Über Veränderungen der Aktivität oxydierender Fermente in viruskranken Pflanzen liegen bereits aus der Frühzeit der Virusforschung Untersuchungen vor (Zusammenfassung bei WYND 1943, BAWDEN 1956). Die Aktivitäten sind zeitlich größeren Schwankungen unterworfen. Im fortgeschrittenen Stadium der Krankheit kann sich das Verhältnis der Peroxydase-Aktivitäten gesunder und kranker Pflanzen sogar umkehren (Abb. 4) (WYND 1943). Schon WOODS (1899) brachte die verstärkten Oxydase-Aktivitäten in Beziehung zur Chlorose, die als Symptom zahlreicher Viruskrankheiten erscheint. Während WOODS die erhöhten Oxydase-Aktivitäten als Ursache der Chlorosen ansah, hielt BUNZEL (1913) sie für eine parallele Erscheinung. SCHWARZE, der 1954 über Untersuchungen an physiologisch gestörten *Phaseolus*-Pflanzen berichtete, erklärte umgekehrt die erhöhte Peroxydase-Aktivität als Folgeerscheinung der Chlorose. Danach soll die durch innere (genetische Effekte) oder äußere Ursachen (Nährstoffmangel, Lichtmangel u. a.) gehemmte Chlorophyllsynthese die Bildung von Porphyrinen begünstigen, die erhöhte peroxydatische Reaktionen ergeben. Diese Anschauungen über die Verknüpfung der oxydierenden Fermente mit den Symptomen erkrankter Pflanzen (Chlorose und Nekrose) werden auch heute noch in zahlreichen Abwandlungen diskutiert. Letztlich resultieren sie aus den noch immer unzureichenden Kenntnissen über die stoffwechselphysiologischen Reaktionsketten, die während des Krankheitsgeschehens ablaufen.

Wir haben daher in unseren Untersuchungen besonderen Wert darauf gelegt, die Enzymaktivitäten gesunder und kranker Pflanzen über einen längeren Zeitraum, mindestens aber bis zur stärksten Symptomausbildung, zu verfolgen. Auf diese Weise müßten durch zeitlich unterschiedlich einsetzende Aktivitätsänderungen verschiedener Enzyme in viruskranken Pflanzen Rückschlüsse auf die Reihenfolge der stoffwechselphysiologischen Prozesse möglich sein.

Die Phosphatase- und Ribonuclease-Aktivitäten zeigten keine oder nur sehr geringe Unterschiede zwischen gesunden und kranken Pflanzen. Es bleibt noch zu prüfen, ob diese Enzyme in den ersten Stunden nach der Infektion ihre Aktivitäten beibehalten. Setzt man voraus, daß die Fermentaktivität der Fermentmenge entspricht, so bedeutet das, daß die Pflanze die ihr durch die Virusinfektion aufgezwungene neue Aufgabe, nämlich die Produktion von Virusmaterial, ohne Neubildung dieser Fermente bewältigt. Das muß nicht heißen, daß nicht andere, nicht geprüfte Fermente bei der Virussynthese eine Aktivitätssteigerung erfahren.

REDDI (1959) schloß aus seinen Versuchen, daß Ribonuclease an synthetischen Vorgängen in der Zelle teilnimmt. Er fand erhöhte Ribonuclease-Aktivitäten bei TMV-Infektion. Tabakpflanzen verhalten sich aber anders als Gurkenkotyledonen. WOLFFGANG und KECK (1958) fanden am Tabak höhere Phosphatase-Aktivitäten nach TMV-Infektion, während wir an Gurkenkeim-

blättern keine Unterschiede zwischen gesunden und kranken Pflanzen beobachten konnten.

Der von Farkas, Király und Solymosy (1960) mitgeteilte Befund, daß die Aktivitätssteigerung der Polyphenoloxydase mit der Symptombildung gekoppelt ist, konnte bestätigt werden. Die Ergebnisse dieser Autoren stützen die Vorstellung, daß die Symptome viruskranker Pflanzen (Chlorosen, Nekrosen) durch die Aktivierung des Polyphenoloxydasesystems verursacht werden, indem chinoide Oxydationsprodukte toxisch wirken. Die Peroxydase soll möglicherweise diesen Prozeß durch Oxydation phenolischer Stoffe unterstützen. Darüber hinaus werden Stärke und Geschwindigkeit der Polyphenoloxydasereaktion dafür verantwortlich gemacht, daß manche Viruswirte auf Virusinfektionen lokal, andere dagegen systemisch reagieren. Dieser Vorstellung liegt der Gedanke nekrogener Abwehrreaktionen zugrunde. Ob damit eine ausreichende Erklärung für die bei viruskranken Pflanzen auftretenden unterschiedlichen Reaktionen (lokal, systemisch) gefunden ist, muß in weiteren Untersuchungen noch geprüft werden. Nach unseren Untersuchungen (Opel 1961 und unveröffentlicht) wiesen viruskranke Pflanzen oft sehr hohe Polyphenol- und Peroxydaseaktivitäten auf, ohne daß es zu einer Lokalisierung der Virusinfektion kam. Es kann geradezu von systemischer Nekrotisierung gesprochen werden (Pound und Singh 1960). Für das Virus der Pfeffinger Krankheit ist beispielsweise diese Reaktion auf *Chenopodium quinoa* L. bekannt. Die Erscheinung, daß lokal nekrotisch reagierende Pflanzen systemisch erkranken, ist nicht selten. Wenn die Vorstellungen der ungarischen Forschergruppe auch auf diese Erscheinungen anwendbar wären, so müßte der Geschwindigkeit der Aktivitätssteigerung größere Bedeutung als ihrer Höhe beigemessen werden. Es würde also die Geschwindigkeit, mit der die Pflanze am Infektionsort eine „Chinonbarriere" errichtet, darüber entscheiden, ob eine Pflanze lokal oder systemisch erkrankt.

Aus den Ergebnissen unserer Untersuchungen schließen wir, daß die gemessenen Aktivitätserhöhungen der Peroxydase und Polyphenoloxydase als Spätfolgen der Virusinfektion auftreten, zu einem Zeitpunkt, an dem die Virusvermehrung bereits ihren Höhepunkt überschritten hat. Außerdem erscheinen die beschriebenen Prozesse als unspezifische Endreaktionen, deren Ursachen nicht nur virusbedingt zu sein brauchen. Bei der Bestimmung der Phosphatase- und Ribonuclease-Aktivitäten konnten weder vor noch während der Symptombildung gesicherte Unterschiede im Vergleich zu gesunden Pflanzen festgestellt werden. Boser (1959) gelangte bei Untersuchungen anderer Enzyme zu ähnlichen Resultaten und vermutete, daß der Stoffwechsel der infizierten Pflanze im allgemeinen nur wenig beeinflußt wird. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß sich die Virusvermehrung in viruskranken Pflanzen unter Ausnutzung des normal ablaufenden Stoffwechsels vollzieht, ohne daß eine besondere Aktivierung von Enzymsystemen notwendig wäre. Die Pflanzen synthetisieren Viruseiweiß und -nucleinsäure nach dem Muster der zelleigenen Systeme, belasten damit aber gleichzeitig Bau- und Betriebsstoffhaushalt zur Produktion zellfremder Körper, die irreversibel festgelegt werden

(Meneghini und Delwiche 1951), also nicht wieder in den Stoffwechsel anderer Zellbestandteile einbezogen werden können. Diese Veränderungen leiten die Prozesse der Oxydase-Aktivitätssteigerung und Symptombildung ein. Zusätzliche Belastungen (Lichtmangel, Nährstoffmangel, Intensivierung des Stoffwechsels) beschleunigen das Einsetzen der Sekundärprozesse (Chlorose, Oxydase-Aktivitätserhöhung) oder verstärken sie. Eine zeitliche Trennung des Aktivitätsanstieges der Oxydasen von den ersten sichtbaren Zeichen einer beginnenden Chlorose ist uns bisher nicht gelungen.

Untersuchungen von Zaitlin und Jagendorf (1960) scheinen diese Vorstellungen zu bekräftigen. Isolierte Chloroplasten aus TMV-kranken Pflanzen ändern die Aktivitäten photosynthetischer Phosphorylierungen und der Hill-Reaktion während der Virusvermehrung nicht, sondern erst 7 Tage nach der Infektion, wenn sich die Chlorosen ausbilden. Der Abfall der Enzymaktivitäten im Zusammenhang mit dem Chlorophyllverlust wurde auch für normal alternde Blätter und bei Stickstoffmangel festgestellt. Eine spezifische Hemmstoffproduktion konnte für das Absinken der Hill-Reaktion bei Viruserkrankung nicht verantwortlich gemacht werden. Aus einigen Versuchen ergab sich, daß vermutlich der Mangel an stickstoffhaltigen Verbindungen die als Spätfolgen einsetzenden Prozesse der Enzymaktivitätsänderungen verursacht.

Zusammenfassung

An Kotyledonen der Gurke (*Cucumis sativus* L.), die nach Infektion mit dem Virus der Stecklenberger Krankheit (StV) oder mit dem Virus der Pfeffinger Krankheit (PfV) lokal mit Läsionen reagierten, wurden während des Krankheitsverlaufes die Aktivitäten der Ribonuclease, Phosphatase, Polyphenoloxydase und Peroxydase gemessen. Die Untersuchungen erfolgten in 6 gleichartigen Versuchsreihen unter Gewächshausbedingungen in der Zeit von November 1959 bis November 1960.

Ribonuclease und Phosphatase wiesen keine oder nur sehr schwache Aktivitätsunterschiede zwischen gesunden und kranken Kotyledonen auf.

Die Aktivitäten der Polyphenoloxydase und Peroxydase stiegen mit Beginn der Symptombildung an und erreichten ihr Maximum, wenn die stärksten Chlorosen erschienen, oder kurz bevor chlorotische Läsionen nekrotisch wurden. Der Aktivitätsanstieg war um so höher, je stärker die Symptome auftraten.

Aus den Ergebnissen wird geschlossen, daß sich der Stoffwechsel viruskranker Gurkenkotyledonen nur wenig verändert. Die Synthese von Viruseiweiß und -nucleinsäure erfolgt vermutlich nach dem Muster der zelleigenen Systeme. Bau- und Betriebsstoffhaushalt werden stark belastet, indem zellfremde Körper (Viren) entstehen, die nicht wieder in den Stoffwechsel anderer Zellbestandteile einbezogen werden können. Hieraus resultieren die meßbaren Aktivitätsänderungen der Polyphenoloxydase und Peroxydase als unspezifische Spätfolgen.

Summary

Investigations on the metabolism of virus-infected plants

The activity of ribonuclease, phosphatase, polyphenoloxidase and peroxidase was determined during the course of the disease in cotyledons of cucumber (*Cucumis sativus* L.) that reacted with local lesions after infection with the virus of the Stecklenberg (StV) or the Pfeffinger diseases (PfV). The investigations were carried out in 6 similar series of experiments under greenhouse conditions in the period from November 1959 to November 1960.

Ribonuclease and phosphatase showed no differences in activity, or very little difference, between healthy and diseased cotyledons.

The activity of the polyphenoloxidase and peroxidase rose at the beginning of symptom development and reached its maximum when the strongest chlorosis appeared or shortly before the chlorotic lesions became necrotic. The rise in activity was greater, the higher the degree of expression of the symptoms.

From the results it is concluded that the metabolism of virus-infected cucumber cotyledons is altered only slightly. The synthesis of virus protein and nucleic acid takes place presumably according to a pattern characteristic of the cell. The economy of structural and metabolic products is highly strained by the fact that bodies foreign to the cell (viruses) arise which are not capable of being absorbed again into the metabolism of other cell components. This leads to the detectable alterations in the activity of polyphenoloxidase and peroxidase as nonspecific after-effects.

Literaturverzeichnis

Barker, G. R., and Th. Douglas, 1960: Function of ribonuclease in germinating peas. Nature **188**, 943—944.

Bawden, F. C., 1956: Plant viruses and virus diseases. Waltham, Mass.

Boser, H., 1958: Einfluß pflanzlicher Virosen auf Stoffwechselfunktionen des Wirtes. II. Mitt. Aktivitäten einiger Fermente des Glycolysesystems und des Citronensäurecyclus in gesunden und virosen Kartoffelblättern und -knollen. Phytopath. Z. **33**, 197—202.

— —, 1959: Einfluß pflanzlicher Virosen auf Stoffwechselfunktionen des Wirtes. III. Mitt. P/O-Quotienten und einige Fermentaktivitäten in Knolle, Keim und Blatt viröser Kartoffelpflanzen. Phytopath. Z. **37**, 164—169.

Bunzel, H. H., 1913: Die Rolle der Oxydasen in der Blattrollkrankheit der Zuckerrübe. Biochem. Z. **50**, 185—208.

D'Ans, J., und E. Lax, 1949: Taschenbuch für Chemiker und Physiker.

Farkas, G. L., Z. Király and F. Solymosy, 1960: Role of oxidative metabolism in the localization of plant viruses. Virology **12**, 408—421.

Fiers, W., und J. Stockx, 1957: Ein neues Fällungsmittel für Ribonucleinsäure und seine Anwendung bei der Bestimmung von Ribonuclease. Naturwissenschaften **44**, 115.

Henke, O., 1959: Untersuchungen über einige am KH-Stoffwechsel und KH-Transport beteiligte Fermente in vergilbungskranken Zuckerrübenblättern. Phytopath. Z. **29**, 469—480.

Kegler, H., H. Opel und H. Herzmann, 1961: Untersuchungen über Virosen des Kernobstes. III. Zur Histologie und Physiologie steinfrüchtiger Birnen. Phytopath. Z. **41**, 42—54.

Kikuchi, M., and A. Yamaguchi, 1960: Polyphenol oxidase activity of *Nicotiana glutinosa* leaves infected with tobacco mosaic virus. Nature **187**, 1048—1049.

Martin, C., 1958: Étude de quelques déviations de métabolisme chez les plantes atteintes de maladies à virus. Diss. Univ. Paris.

Meneghini, M., and C. C. Delwiche, 1951: The multiplication of tobacco mosaic virus in the host tobacco plant. J. biol. Chem. **189**, 177—186.

Opel, H., 1961: Untersuchungen an viruskranken Gurkenpflanzen. 40 Jahre Institut für Phytopathologie Aschersleben, Tagungsber. DAL zu Berlin, Nr. 33, 101—110.

Pound, G. S., and G. P. Singh, 1960: The effect of air temperature on the multiplication of tobacco mosaic virus in susceptible and resistant pepper. Phytopathology **50**, 803—807.

Reddi, K. K., 1959: Studies on tobacco leaf ribonuclease. III. Its role in the synthesis of tobacco mosaic virus nucleic acid. Biochim., biophys. Acta **33**, 164—169.

Schwarze, P., 1954: Beziehungen zwischen Peroxydasereaktion, Eiweiß-Spiegel und Chlorophyllbildung. Planta **44**, 491—502.

Solymosy, F., G. L. Farkas and Z. Király, 1959: Biochemical mechanism of lesion formation in virusinfected plant tissues. Nature **184**, 706—707.

Wolffgang, H., und A. Keck, 1958: Untersuchungen über den Stoffwechsel viruskranker Pflanzen. I. Die Phosphatase-Aktivität in *Nicotiana tabacum* L. var. Samsun nach Infektion mit TMV. Phytopath. Z. **34**, 57—65.

Woods, A. F., 1899: The destruction of chlorophyll by oxidizing enzymes. Zbl. Bakt. II, Abt. **5**, 745—754.

Wynd, F. L., 1943: Metabolic phenomena associated with virus infection in plants. Bot. Rev. **9**, 395—465.

Zaitlin, M., and A. T. Jagendorf, 1960: Photosynthetic phosphorylation and hill reaction activities of chloroplasts isolated from plants infected with tobacco mosaic virus. Virology **12**, 477—486.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft,
Laboratorium für Zierpflanzenkrankheiten und Institut für Mykologie,
Berlin-Dahlem
und dem
Institut für Zierpflanzenbau der Technischen Hochschule Hannover

Phytophthora cinnamomi Rands als Krankheitserreger an *Erica gracilis* Salisb.

Ein Beitrag zur Ätiologie und Bekämpfung des „*Erica*-Sterbens"

Von

W. Sauthoff, H. Kröber und R. Maatsch

Mit 11 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — Symptome und Verlauf der *Phytophthora*-Krankheit. — Beziehungen zwischen Krankheitsauftreten und Kultur der Eriken. — Der Erreger: a) Isolierung; b) Verbreitung; c) Morphologie. — Infektionsversuche. — Bekämpfung der *Phytophthora*-Krankheit. — Diskussion. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

EINLEITUNG

Die aus dem Kapland stammende *Erica gracilis* Salisb. hat als Zierpflanze beträchtliche Bedeutung: in Deutschland werden zur Zeit jährlich rund fünf Millionen Eriken angezogen. Da die Kultur viel Erfahrung verlangt, ist sie bis heute eine Spezialität relativ weniger Gärtnereien geblieben, von denen die meisten in vier ziemlich eng begrenzten Anbaugebieten liegen, nämlich in Sachsen, um Frankfurt am Main, am Niederrhein und im Raum Bremen-Oldenburg.

Erica gracilis wird vegetativ, und zwar durch Stecklinge vermehrt. Diese werden bei gleichmäßiger Bodentemperatur von 18 °C gehalten. Sie bewurzeln sich in 4 bis 6 Wochen. Die wichtigsten Vermehrungszeiten sind die Monate Juli und Januar (im ersten Fall dauert die Kultur 26, im zweiten 20 Monate). Die Jungpflanzen werden dann in temperierten Gewächshäusern pikiert, im allgemeinen auf Beete, hier und da auch in Kisten. Zu Beginn des nächsten Kulturabschnittes werden sie eingetopft und in hellen, luftigen

Gewächshausblocks aufgestellt, wo sie bei 3 bis 5 °C auch überwintern. Im Frühjahr werden die Eriken noch einmal verpflanzt und einige Wochen später — etwa Ende Mai — auf Freilandbeete gebracht. Dort senkt man die Töpfe bis dicht unter den oberen Rand in die Erde ein. Die Blüte beginnt im allgemeinen Anfang September.

In der Praxis kommt es bei der *Erica*-Kultur oft zu großen Verlusten durch das sogenannte *Erica*-Sterben (Abb. 1). Obwohl über die Höhe der Ausfälle keine exakten Angaben vorliegen, kann es nicht zweifelhaft sein, daß es sich hier um eine der für den deutschen Zierpflanzenbau wirtschaftlich wichtigsten Krankheitserscheinungen handelt. Nach STAHN und REIMANN (1958) soll das „*Erica*-Sterben" in Deutschland schon seit mehr als hundert Jahren auftreten.

Abb. 1. Berge toter Eriken am Rande der Anzuchtbeete

Natürlich ist die Frage nach den Ursachen dieser Absterbeerscheinungen stets lebhaft diskutiert worden. Viele Gärtner sind der Ansicht, das „*Erica*-Sterben" sei eine unmittelbare Folge von Kulturfehlern (siehe auch PAPE 1955). Man glaubt, daß es vor allem durch zu tiefes Pflanzen, ungeeignete Erden oder unvorsichtiges Gießen hervorgerufen wird. GLEISBERG (1930) hat in diesem Zusammenhang außerdem auf die Bedeutung der Bodenreaktion hingewiesen. Er konnte zeigen, daß *Erica gracilis*, obwohl im Prinzip säureliebend, durch sehr stark saure Substrate geschädigt werden kann.

Neuerdings ist von HEIMANN (1956, 1957, 1959 a und b, 1960), STAHN (1956) sowie STAHN und REIMANN (1957, 1958) *Pestalotia versicolor*[1]) als Erreger des „*Erica*-Sterbens" genannt worden. Nach HEIMANN (1956, 1959 a) kommt dieser Pilz jedoch nicht allein in kranken, sondern auch in gesunden Pflanzen vor. Der Autor spricht von einer Vergesellschaftung und erwägt die Möglichkeit eines symbiontischen Verhältnisses. Das Absterben der Eriken

[1]) Im Rahmen unserer Untersuchungen wurden eigene Isolate dieses Pilzes sowie eine von Herrn Dr. HEIMANN freundlicherweise zur Verfügung gestellte Vergleichskultur eingehend untersucht. Danach handelt es sich nicht um *Pestalotia versicolor* Speg. (= *Pestalotiopsis versicolor* [Speg.] Steyaert), sondern um *Pestalotiopsis guepini* (Desm.) Steyaert (= *Pestalotia sydowiana* Bres.), die weit verbreitete Typusart dieser Gattung, die auch früher schon häufig in Deutschland an verschiedenen *Ericaceae* festgestellt worden ist. Darüber wird von W. GERLACH und W. SAUTHOFF in einer späteren Arbeit im einzelnen berichtet werden.

wird als „Kulturkrankheit" bezeichnet: Der Pilz soll die Pflanzen nur schädigen und abtöten, wenn sie durch Kulturfehler geschwächt sind. „Die wichtigste Maßnahme zur Bekämpfung des «Erikensterbens» ist daher die Schaffung optimaler Wachstumsbedingungen für die Pflanzen" (HEIMANN 1956).

In der Schweiz sind ähnliche Absterbeerscheinungen an *Erica gracilis* beschrieben worden, die durch Pilze der Gattungen *Olpidium* und *Rhizophidium* hervorgerufen werden (OSTERWALDER, SCHÜTZ und VOGEL 1955, OSTERWALDER 1957, STALDER und SCHÜTZ 1957, STALDER 1958). Die Krankheit wird als *Erica*-Wurzelsterben bezeichnet. Nach HEIMANN (1959 b) tritt sie auch in Deutschland auf, und zwar in dem Anbaugebiet um Frankfurt; als Erreger wird von ihm *Olpidium* angegeben.

Das „eigentliche *Erica*-Sterben" — das *Erica*-Wurzelsterben bleibt hier zunächst außer Betracht — ist nach den oben umrissenen Vorstellungen HEIMANNS (l. c.) im Grunde genommen also ein pflanzenbauliches Problem. Sonst wäre nämlich auch nicht verständlich, daß es noch so viel gesunde Eriken gibt, denn der „Erreger", *Pestalotiopsis*, ist ja in Moorbeetkulturen weit verbreitet und wohl in jedem *Erica*-Betrieb nachzuweisen. Der enge Zusammenhang zwischen dem Auftreten der Krankheit und der Kultur, auf den der Autor in allen seinen Veröffentlichungen nachdrücklich hinweist, ohne darüber freilich präzise Angaben zu machen, ist für uns in der Praxis jedoch nicht erkennbar. Es kommt zu katastrophalen Verlusten in Gärtnereien, die in pflanzenbaulicher Hinsicht als Spitzenbetriebe gelten, und andererseits kann ein stark vernachlässigter, durchaus nicht fachgerecht behandelter Bestand gesund sein, obwohl auch hier *Pestalotiopsis* mühelos festzustellen ist. Außerdem war in den letzten Jahren mehrfach zu beobachten, daß sich Eriken, die als pikierte Jungpflanzen aus verschiedenen Gärtnereien bezogen werden, bei der Weiterkultur in ein und demselben Betrieb, also unter gleichen Bedingungen, recht verschieden verhalten können: In einigen Herkünften tritt die Krankheit auf, in anderen nicht, je nach dem Gesundheitszustand der Bestände, aus denen sie stammen! Schließlich ist bemerkenswert, daß das „*Erica*-Sterben" in einem Betrieb meistens nicht sofort mit großen Verlusten beginnt, sondern daß zunächst nur geringfügige Ausfälle eintreten, die in den folgenden Jahren immer stärker werden. Wären Kulturfehler das Entscheidende, so müßten die Eriken erst gut und dann immer schlechter behandelt worden sein, was als ganz unwahrscheinlich gelten darf. Daß das Problem *Erica*-Sterben „endgültig geklärt" sei (HEIMANN 1959 b), mußte also schon allein auf Grund dieser zunächst nur beiläufigen Beobachtungen in der Praxis bezweifelt werden.

In einer norddeutschen Gärtnerei, in der jährlich mehr als 100 000 Eriken angezogen werden, hatten wir dann Gelegenheit, nicht nur das Auftreten des „*Erica*-Sterbens", sondern zugleich auch den Ablauf der Kultur längere Zeit im einzelnen zu verfolgen. Der Ausfall betrug hier 1958 etwa 60 % und 1959 fast 100 %. An den kranken Pflanzen war *Pestalotiopsis* leicht nachzuweisen; Hinweise auf Kulturfehler, die wir als auslösendes Moment

für eine Schädigung der Pflanzen durch diesen Pilz hätten ansehen können, ließen sich jedoch nicht finden. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Wurzeln auf *Olpidium* und *Rhizophidium* wurde zwar *Olpidium* festgestellt, aber nur an einem so geringen Teil der untersuchten Pflanzen und auch dort wieder nur so vereinzelt, daß dieser Pilz als Krankheitsursache ebenfalls ausgeschlossen werden mußte. Hier lag also zweifelsfrei ein Fall vor, der mit den in der Literatur vertretenen Auffassungen über die Ursachen des „*Erica*-Sterbens" nicht erklärt werden konnte. Eine experimentelle Überprüfung dieser Vorstellungen erschien daher und wegen der anhaltend hohen Verluste in vielen anderen Gärtnereien dringend notwendig.

Aus praktischen Gründen beschränkten wir unsere Untersuchung anfänglich ganz auf den erwähnten norddeutschen Betrieb. Sie führte überraschend schnell zu einem klaren Ergebnis: Als Erreger der dort beobachteten Erikenkrankheit wurde *Phytophthora cinnamomi* Rands festgestellt. Wenig später konnte nachgewiesen werden, daß die *Phytophthora*-Krankheit in den deutschen *Erica*-Gärtnereien weit verbreitet ist (SAUTHOFF, KRÖBER und MAATSCH 1959; KRÖBER, SAUTHOFF und MAATSCH 1959).

Symptome und Verlauf der *Phytophthora*-Krankheit

Ein eingehendes Studium der Krankheitsbilder und des Krankheitsverlaufes zeigte, daß die Symptome an den oberirdischen Teilen der Eriken, das „*Erica*-Sterben" in seinen verschiedenen Formen, im typischen Falle die Folge einer Wurzelfäule sind. Außer den Wurzeln, die zunächst grau, später braun gefärbt sind, können auch der Stengelgrund und die unteren Partien der älteren Äste befallen werden. Eine Schädigung der Sproßbasis allein, ohne gleichzeitige, mindestens partielle Wurzelfäule, wurde von uns nicht beobachtet. Dadurch wird diese Möglichkeit aber natürlich nicht ausgeschlossen.

Jungpflanzen, die von *Phytophthora* befallen sind, kümmern oder welken, werden fahlgrün und vertrocknen. Die Gefahr einer Verwechslung mit Krankheitserscheinungen, die auf andersartige Ursachen zurückgehen, ist hier besonders groß.

An den älteren Eriken verläuft die Krankheit im Frühjahr sehr langsam. Als erstes Symptom zeigt sich dem geübten Beobachter eine leichte Wachstumshemmung. Häufig finden sich an der Basis der älteren Triebe gelbe oder rötliche Blätter. Diese Verfärbung kann sich allmählich bis zu den Stutzstellen hinaufziehen. Je weiter die Wurzelfäule fortschreitet, um so mehr bleiben die Eriken im Wuchs zurück (Abb. 2). Später legen sich die Blätter nach oben an die Sproßachse an, und schließlich vertrocknen die Pflanzen. Dabei bleiben die Triebspitzen in der Regel aufrecht stehen. Das Kümmern und Absterben kann sich über viele Wochen hinziehen.

Dagegen verläuft die Krankheit im Sommer an den im Freiland stehenden Eriken oft außerordentlich schnell. Kräftige, im Wuchs keineswegs zurückgebliebene Pflanzen legen plötzlich die Blätter eng an die Sproßachsen,

die Triebspitzen nicken (Abb. 3), färben sich fahlgrün, und in kurzer Zeit werden die Pflanzen grau und dann braun. Recht häufig kommt es vor, daß anfänglich nur einzelne Zweige absterben und andere zunächst noch gesund aussehen.

Abb. 2. Von *Phytophthora cinnamomi* befallene Eriken im Frühjahr (Spontaninfektion); links gesunde Pflanze

Zwischen den im Frühjahr und den im Sommer auftretenden Krankheitsbildern gibt es alle Übergänge. Bei anhaltend kaltem Wetter findet man stark gestauchte, längere Zeit kränkelnde Pflanzen auch noch im Sommer. Bestimmend für die Symptomausprägung sind außer der Witterung die Größe der Pflanzen und der Zeitpunkt der Infektion. Das „Nicken" der Triebspitzen, das in der Praxis oft als besonders charakteristisch angesehen wird, tritt offensichtlich um so eher auf, je länger die Triebe zur Zeit der Erkrankung sind.

Die Ausfälle sind während des Winters sehr gering. Sie nehmen mit steigender Temperatur langsam zu, erreichen im allgemeinen in der Zeit von Ende Juni bis Mitte August ihren Höhepunkt und gehen zum Herbst hin langsam zurück. Niedrige Luftfeuchtigkeit scheint das Absterben zu beschleunigen, denn die Pflanzenverluste häufen sich auffällig, wenn im Sommer auf feuchtwarmes Wetter trokkene Tage folgen.

Abb. 3. Plötzliches Welken einer von *Phytophthora cinnamomi* befallenen Pflanze im Hochsommer (Spontaninfektion); lks. gesunde Pflanze

Es ist bemerkenswert, daß HEIMANN (l. c.), STAHN (l. c.) und STAHN und REIMANN (l. c.) die von uns im Frühjahr und Frühsommer beobachteten Krankheitsbilder (Abb. 2) unerwähnt lassen.

Beziehungen zwischen Krankheitsauftreten und Kultur der Eriken

Als wir mit unserer Untersuchung über das „*Erica*-Sterben" begannen, konnte kaum damit gerechnet werden, ein so altes und wiederholt bearbeitetes Problem werde sich schnell und einfach durch die Isolierung eines bis dahin nicht genannten Erregers lösen lassen. Es wurde deshalb zunächst versucht, die praktisch wie theoretisch grundlegende Frage zu klären, ob zwischen dem Auftreten der Krankheit und der Kultur ein direkter Zusammenhang besteht. Sowohl nach den Vorstellungen der Gärtner, als auch nach den in der Literatur vertretenen Hypothesen sollte das „*Erica*-Sterben" ja durch Kulturfehler ausgelöst werden, während unsere eigenen Beobachtungen, wie einleitend erörtert wurde, dagegen zu sprechen schienen. Wir fragten uns daher: Kann das „*Erika*-Sterben" unter den Bedingungen einer fachgerechten, sorgfältigen Kultur reproduziert werden?

Wie diese Frage experimentell anzufassen sei, ergab sich zunächst einmal aus den Symptomen: eine Wurzelfäule wird wahrscheinlich vom Boden ausgehen und bodenübertragbar sein. Zudem hatte sich gezeigt, daß die Krankheit in der oben schon genannten norddeutschen Gärtnerei mit dem Unterboden der Pikierbeete zusammenhing. Diese von tischhohen Mauern eingefaßten Beete enthielten nämlich anstelle einer tragenden Konstruktion lediglich gewachsenen oder angeschütteten Boden (Abb. 4). Darauf wurden vor jeder neuen Kultur erst eine dünne Lage Sand und dann eine 5 bis 7 cm hohe Schicht des eigentlichen Erikensubstrates gebracht, das aus reinem Schwarztorf oder einem Schwarztorf - Sand - Gemisch bestand. Solange die Eriken im Vermehrungshaus standen, waren sie gesund. Die ersten Symptome wurden regelmäßig einige Wochen nach dem Pikieren sichtbar. Im Bereich der Krankheitsherde waren die Wurzeln durch den Torf und durch den Sand hindurchgewachsen und in den Unterboden vorgedrungen. Die Wurzelfäule begann stets an den Spitzen und schritt von unten nach oben fort. 3000 Pflanzen, die im Jahre 1958 aus Platzmangel nicht in den Beeten, sondern in Kisten pikiert wurden, so daß sie nicht mit dem Unterboden in Berührung kommen konnten, blieben bis zum Schluß der Kultur gesund.

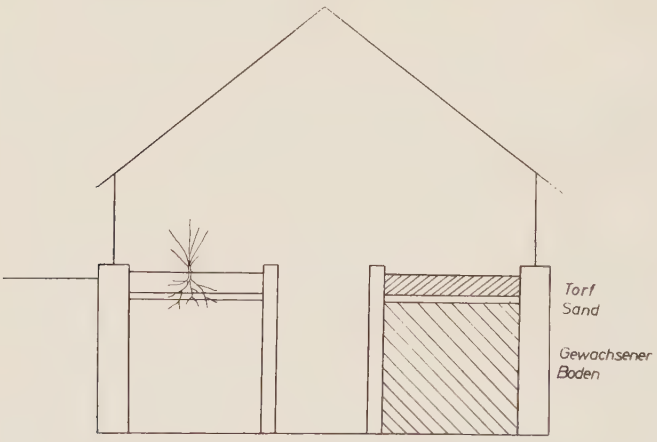

Abb. 4. Querschnitt durch eines der Gewächshäuser, in denen die Eriken pikiert wurden (s. Text)

Versuch 1

Dieser Versuch wurde mit *Erica*-Stecklingen durchgeführt. Dem aus Schwarztorf und Sand (6 : 1) bestehenden Vermehrungssubstrat wurde im Verhältnis 2 : 1 Unterboden aus einem der Pikierbeete zugesetzt. Dieser war nach Art einer Durchschnittsprobe, d. h. ohne Berücksichtigung der Krankheitsherde, entnommen worden. Für die Kontrolle wurde der Unterboden gedämpft. In einer zweiten Kontrolle blieb das Substrat ohne Zusatz. Die Pflege der Stecklinge, die in Tonschalen im Vermehrungshaus unserer „Versuchsgärtnerei" standen, übernahm der leitende Kultivateur dieses Betriebes, der als einer der erfahrensten *Erica*-Fachleute gelten kann. Der Versuch wurde am 4. 2. 1959 angesetzt und am 22. 4. 1959 abschließend bonitiert.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1

„*Erica*-Sterben" an Stecklingen

Ergebnisse einer Vermehrung in einem Substrat mit und ohne Zusatz von Unterboden aus einem der Pikierbeete (s. Text)

	Zahl der Stecklinge	Abgestorbene Stecklinge in %	Kranke Stecklinge in %	Gesamtausfall in %
Vermehrungssubstrat ohne Zusatz	600	7	0	7
2/3 Vermehrungssubstrat + 1/3 Unterboden, gedämpft	600	5	0	5
2/3 Vermehrungssubstrat + 1/3 Unterboden, ungedämpft	600	27	14	41

Dazu ist zu bemerken, daß in der gärtnerischen Praxis bei der *Erica*-Vermehrung Ausfälle von 20 bis 25 % noch als normal angesehen werden (Vogel 1960). Die Werte der beiden Kontrollen — 5 % und 7 % — lassen daher auf überdurchschnittlich günstige Kulturbedingungen schließen. Durch den Zusatz ungedämpften Unterbodens wurde der Ausfall auf 41 % gesteigert.

Versuch 2

In einem der Pikierbeete wurde der Unterboden gedämpft. Der Versuch umfaßte 10 gleich große, nebeneinanderliegende Parzellen (160 × 140 cm), von denen jede zweite unbehandelt blieb. Auf dem gedämpften wie dem nicht gedämpften Unterboden wurde dann das eigentliche Substrat, ein Schwarztorf-Sand-Gemisch (10 : 1), in 6 cm hoher Schicht ausgebreitet. Am 22. 4. 1959 wurden in jede Parzelle 1000 bewurzelte Stecklinge pikiert. Ihre Pflege übernahm derselbe Gärtner, der auch schon den Versuch 1 betreut hatte. Die abschließende Bonitierung erfolgte am 4. 9. 1959.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

In den Kontrollparzellen war ein Ausfall von 0,06 % (= 3 auf 5000) zu verzeichnen. Das ist, pflanzenbaulich betrachtet, ein ungewöhnlich gutes Ergebnis. Wir vermögen uns nicht vorzustellen, wie man Eriken noch sorgfältiger kultivieren könnte, als es hier geschehen ist. In den Parzellen mit nicht gedämpftem Unterboden aber betrug der Anteil der kranken und abgestorbenen Pflanzen 75 %!

Tabelle 2

„*Erica*-Sterben" an pikierten Jungpflanzen
Ergebnisse der Kultur in Torf-Sand-Substrat über gedämpftem und nicht gedämpftem Unterboden (s. Text)

	Zahl der pikierten Pflanzen	Abgestorbene Pflanzen in %	Kranke Pflanzen in %	Gesamtausfall in %
Unterboden gedämpft	5000	0,06	0	0,06
Unterboden nicht gedämpft ..	5000	56	19	75

Versuch 3

Zum Eintopfen pikierter Jungpflanzen wurde Erde aus den Wurzelballen kurz vorher abgestorbener Eriken verwendet. Für die Kontrolle wurde diese Erde gedämpft. Die Pflanzen einer zweiten Kontrolle erhielten frisches Substrat, bestehend aus Schwarztorf, Weißtorf und Sand (6 : 4 : 1). Der am 22. 4. 1959 angesetzte und am 4. 9. 1959 beendete Versuch wurde im Institut für Zierpflanzenbau der Techn. Hochschule Hannover durchgeführt. Die Kulturbedingungen entsprachen denen der Praxis, die Pflege erfolgte mit aller denkbaren Sorgfalt.

Tabelle 3

„*Erica*-Sterben" an Jungpflanzen im 8-cm-Topf
Ergebnisse der Kultur in frischem Substrat sowie in gedämpfter und nicht gedämpfter Wurzelballenerde abgestorbener Pflanzen

	Zahl der Pflanzen	Abgestorbene Pflanzen in %	Kranke Pflanzen in %	Gesamtausfall in %
Frisches Substrat	100	0	0	0
Wurzelballenerde gedämpft ..	100	0	0	0
Wurzelballenerde nicht gedämpft	100	97	3	100

Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Sie bedürfen keiner Erörterung.

Versuch 4

Beim Verpflanzen älterer Eriken wurde Erde aus den Wurzelballen kurz vorher abgestorbener Pflanzen verwendet. Die Versuchsanordnung und die Versuchsdaten waren die gleichen wie bei Versuch 3, nur standen die älteren Eriken ab Ende Mai natürlich im Freiland.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4

„*Erica*-Sterben" an älteren Pflanzen im Freiland
Ergebnisse der Kultur in frischem Substrat sowie in gedämpfter und nicht gedämpfter Wurzelballenerde abgestorbener Pflanzen

	Zahl der Pflanzen	Abgestorbene Pflanzen in %	Kranke Pflanzen in %	Gesamtausfall in %
Frisches Substrat	100	0	0	0
Wurzelballenerde gedämpft ..	100	0	0	0
Wurzelballenerde nicht gedämpft	100	65	35	100

Aus diesen Versuchen konnten wir schließen:

1. Das „*Erica*-Sterben" in der vorliegenden Form ist in der Tat bodenübertragbar. Das pathogene Prinzip kann durch Dämpfen des Bodens ausgeschaltet werden.

2. Es sind keine Kulturfehler notwendig, um die Krankheit auszulösen; sie kann vielmehr auch unter den Bedingungen einer fachgerechten, mit größter Sorgfalt betriebenen Kultur auftreten.

Diesen Feststellungen entspricht das Ergebnis der im folgenden beschriebenen Isolierungsversuche.

Der Erreger

a) Isolierung

Angesichts der wirtschaftlichen Dringlichkeit des vorliegenden Problems begannen wir schon im Februar 1959, ohne also die Klärung der im letzten Abschnitt behandelten Frage abzuwarten, mit recht umfangreichen Isolierungsversuchen. Die Pflanzen stammten aus der genannten norddeutschen Gärtnerei. Von Anfang an konnte regelmäßig *Phytophthora* isoliert werden, und zwar immer *P. cinnamomi*. Auch später, an den im Laufe des Frühjahrs und Sommers erkrankenden Eriken, wurde ständig dieser Pilz festgestellt.

An gesunden Pflanzen desselben Bestandes und an Eriken aus einem Betrieb, in dem das „*Erica*-Sterben" nicht auftrat, war er dagegen nicht nachzuweisen.

Phytophthora cinnamomi konnte aus den Wurzeln, dem Stammgrund und den unteren Teilen älterer Zweige isoliert werden, aus den Wurzeln im allgemeinen aber am leichtesten. Von den Nährböden, mit denen wir bisher gearbeitet haben, scheint Möhrenschnitzelagar am besten geeignet zu sein. Die Kulturschalen bonitieren wir in der Regel schon nach 48 Stunden. Dies ist einerseits möglich, weil *Phytophthora cinnamomi* dann bereits ihre recht charakteristischen Myzelformen ausgebildet hat (Abb. 5), und andererseits empfehlenswert, weil der Pilz später meistens schnell von anderen Organismen überwuchert wird.

Aus verseuchter Erde ist *Phytophthora cinnamomi* recht gut mit Hilfe von Äpfeln zu isolieren. Diese sollen nicht überreif und möglichst nicht zu klein sein. Sie werden mit Alkohol äußerlich desinfiziert und mit einem Skalpell leicht verletzt. In die Wunden wird etwas Erde eingedrückt, dann werden sie mit einem Paraffin-Vaseline-Gemisch verschlossen. Bei etwa 25 °C bilden sich in 5 bis 7 Tagen um die Infektionsstellen braune Faulstellen mit einem Durchmesser von 2 bis 3 cm, aus denen der Pilz leicht isoliert werden kann. Leider ist die Methode nicht völlig spezifisch, manche *Phytium*-Arten zum Beispiel sind an Äpfeln ebenfalls pathogen. Das Auftreten brauner Pilzläsionen darf daher noch nicht als Nachweis der *Phytophthora* gewertet werden; sicheren Aufschluß gibt erst ihre Isolierung.

Mit dieser Methode konnte *Phytophthora cinnamomi* auch im Unterboden der Pikierbeete nachgewiesen werden, die im vorhergehenden Abschnitt mehrfach erwähnt wurden. Von den nach einem festen Schema entnommenen Proben war durchschnittlich die Hälfte positiv, was auf eine starke Verseuchung schließen läßt, da ja nur sehr kleine Erdmengen in den Test eingehen.

Um Reinkulturen von *Phytophthora cinnamomi* herzustellen, impfen wir den Pilz zunächst auf Wasseragar, wo er so locker wächst, daß es leicht gelingt, vom Rand der Kultur eine einzelne Hyphenspitze abzustechen. Dadurch werden pilzliche Verunreinigungen mit Sicherheit ausgeschaltet. Die Hyphenspitze wird nun in eine Petrischale mit Möhrenschnitzelagar übertragen, von dem vorher ein 1½ cm breiter, durchgehender Streifen entfernt und durch Paraffinöl ersetzt wurde. Der Pilz wächst durch das Paraffinöl hindurch und ist dann in der Regel auch bakterienfrei.

Es ist darauf hinzuweisen, daß die Isolierung von *Phytophthora cinnamomi* gelegentlich Schwierigkeiten macht, wenn die zu untersuchenden Pflanzen einmal trocken geworden sind, was vor allem bei Einsendungen leicht geschehen kann. Ein einmaliger, negativ verlaufener Isolierungsversuch sollte daher in solchen Fällen nicht überbewertet werden. Einen *Phytophthora*-Befall mikroskopisch zu diagnostizieren, dürfte kaum möglich sein, da der Erreger nach unseren bisherigen Erfahrungen im Inneren der Pflanze keine charakteristischen Organe ausbildet und selbst in der feuchten Kammer nicht mit Myzel nach außen tritt.

b) Verbreitung

Von Juni 1959 an dehnten wir unsere Untersuchungen auf andere *Erica*-Gärtnereien aus. Wir erbaten kranke Pflanzen von mehreren norddeutschen Betrieben und sammelten selbst Material in den Anbaugebieten um Frankfurt und am Niederrhein. Außerdem bemühten wir uns um Einsendungen aus Gärtnereien, die nicht in den eigentlichen Zentren des *Erica*-Anbaues liegen. So wurden im Jahre 1959 Eriken mit Symptomen des sogenannten *Erica*-Sterbens aus insgesamt 40 Betrieben in Nord-, West- und Süddeutschland untersucht: in 35 von diesen Gärtnereien konnte *Phytophthora cinnamomi* nachgewiesen werden.

c) Morphologie

Um den Erreger sicher bestimmen zu können, mußten sein Verhalten in Kultur und seine morphologischen Merkmale untersucht werden. Dabei wurden folgende Nährmedien verwendet:

Möhrenschnitzelagar	(etwa 10 % feine Möhrenschnitzel)
Würzeagar	(15 % Bierwürze)
Hafermehlagar	(3 % Hafermehl)
Bohnenmehlagar	(3 % Bohnenmehl)
Möhrendekokt	(250 g Möhren, Leitungswasser ad 1000 ml)

Auf den Agarnährböden bildet der Pilz mäßig dichte, weiße Myzelkolonien. Schon nach 4 bis 6 Tagen erscheinen im Substrat regelmäßig die recht auffälligen Chlamydosporen. Zoosporangien dagegen entstehen auf den genannten Medien normalerweise nicht oder nur vereinzelt. Nach Oyler und Bewley (1937) werden sie jedoch reichlich angelegt, wenn man *Phytophthora cinnamomi* in wäßrige Auszüge von Komposterde bringt. In Anlehnung an diese Methode kultivieren wir den Pilz in Erlenmeyerkolben auf Möhrendekokt vor und übertragen die Myzeldecken nach einer Woche in eine nicht sterile Aufschwemmung sandiger, schwach humoser Gartenerde. Dort bleiben sie 2 Tage. Dann werden sie unter fließendem Leitungswasser gut abgespült und in Aqua bidest. gebracht, wo sich in 8 bis 12 Stunden viele Sporangien bilden. Die Zoosporen schlüpfen beschleunigt, sobald das Wasser erneuert wird. Auf diese Weise wurde auch die Zoosporensuspension für den auf Seite 88 beschriebenen Infektionsversuch gewonnen.

Oosporen und Antheridien konnten wir bisher bei keiner unserer Pilzherkünfte beobachten, im Gegensatz zu Erfahrungen von Oyler und Bewley (l. c.) auch nicht in mehr als 6 Monate alten Hafermehlagar-Kulturen. Alle Versuche, die Bildung der genannten Organe durch Kontakt mit sterilen oder nicht sterilen Erdaufschwemmungen herbeizuführen, blieben ebenso erfolglos wie die Kultur auf sterilen oder nur äußerlich desinfizierten Wurzelteilen von *Persea gratissima* (Avocado) und daraus hergestellten Auszügen und Agarnährböden (Zentmyer, Snyder und Hansen 1950, Zentmyer und Munnecke 1952). In Mischkulturen von *Phytophthora cinnamomi* und *Phytophthora cryptogea* (Stamps 1953) erhielten wir zwar Oogonien, doch

konnte nicht ausgeschlossen werden, daß Artbastarde vorlagen. Allein mit Kulturfiltraten von *Phytophthora cryptogea* war die Anlage der Oogonien aber nicht zu induzieren. Das Fehlen der generativen Organe ist bei *Phytophthora cinnamomi* nicht ungewöhnlich (z. B. CRANDALL, GRAVATT und

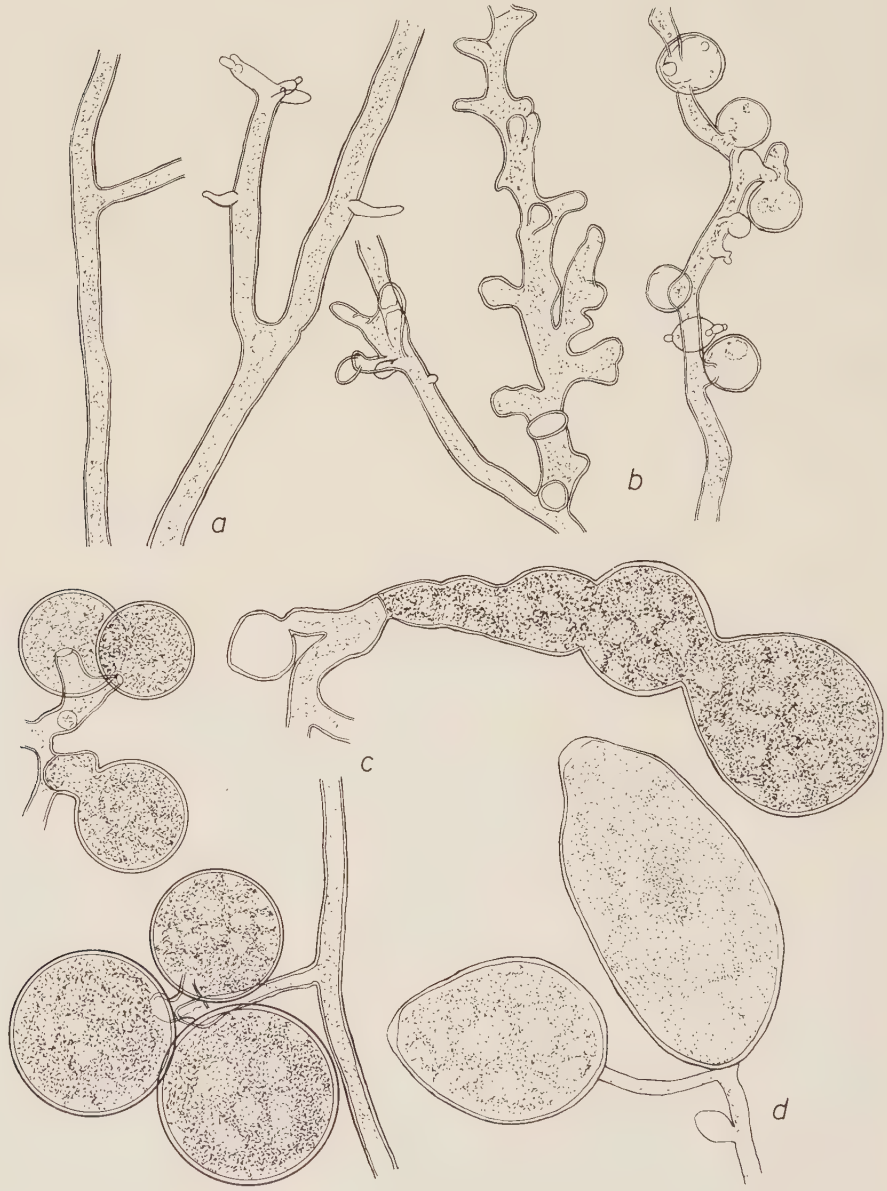

Abb. 5. *Phytophthora cinnamomi* Rands aus *Erica gracilis* isoliert
a) fädige Hyphen; b) Hyphen mit den typischen Anschwellungen und Ausstülpungen; c) Chlamydosporen; d) Zoosporangien am Träger. 500 : 1

Ryan 1945, Moreau und Moreau 1952); der Pilz ist ja 1922 von Rands (zit. nach Waterhouse 1956) zunächst auch ohne Kenntnis der Oogonien und Antheridien beschrieben worden.

Aus dem umfangreichen, morphologisch recht einheitlichen Material von *Phytophthora cinnamomi*, das uns zur Verfügung stand, wurden 10 Herkünfte herausgegriffen und genauer bearbeitet. Danach ist der Pilz wie folgt zu charakterisieren:

Die Hyphen sind in der Regel unseptiert, ihr Inhalt ist hyalin oder granuliert. Sie sind fädig oder bilden kurze knotige Seitenzweige und unregelmäßig angeordnete, hyaline oder schwach gelblich gefärbte Anschwellungen und Ausstülpungen von kugeliger oder regelloser Gestalt (Abb. 5). Daran ist der Pilz bei der Isolierung schon früh und ziemlich sicher zu erkennen.

Die Chlamydosporen, die einzeln oder gehäuft an kurzen Seitenzweigen des Myzels entstehen (Abb. 5), sind meist kugelig, manchmal länglich oder erscheinen bisweilen als unregelmäßige Gebilde. Ihre Wandung ist relativ dünn und glatt, ihr Inhalt im allgemeinen schwach gelblich gefärbt und körnig strukturiert. Sie sind gegen die Traghyphen durch ein Septum abgegrenzt und lassen häufig viele keimschlauchartige Ausstülpungen erkennen. Einen Überblick über die Größenverhältnisse gibt Tabelle 5. Der Durchmes-

Tabelle 5

Größe der Chlamydosporen von 10 *Phytophthora*-Herkünften

(200 Messungen kugeliger Chlamydosporen je Herkunft; Maße in Mikron)

Herkunft	Absolute Schwankung	Durchschnitt
8837	33 — 58	47,1
8905	22 — 53	42,3
8911	25 — 67	42,6
8919	22 — 64	46,1
8923	22 — 67	47,6
8925	25 — 67	47,6
8930	25 — 64	49,3
8934	22 — 64	46,9
8936	22 — 70	52,0
8938	11 — 58	42,7

ser der kugeligen Chlamydosporen beträgt im Mittel aller Messungen (N 2000) 46,4 μ. Die Häufigkeitsverteilung der Einzelwerte, die von 11 bis 70 μ schwanken, zeigt Abbildung 6.

Die Zoosporangien (Abb. 5) sind ei-, zitronen- oder birnenförmig, manchmal auch asymetrisch, und besitzen eine breite, aber flache Papille, die fast immer gut zu erkennen ist. Die Wandung ist relativ dünn, das stark lichtbrechende, schwach gelblich erscheinende Plasma mehr oder weniger kör-

nig. Die Träger sind einfach oder monochasial verzweigt; es kommt vor, daß sie durch entleerte Sporangien hindurch weiterwachsen. Die Größe der Zoosporangien (Tab. 6) beträgt im Mittel aller Messungen (N = 2000) 41,5 × 28,7 μ. Die Länge schwankt von 17 bis 103 μ, die Breite von 11 bis 53 μ. Einen Überblick über die Häufigkeitsverteilung der Einzelwerte gibt Abbildung 6.

Nach seinen morphologischen Merkmalen und seinem Verhalten in der Kultur ist nicht daran zu zweifeln, daß es sich bei dem vorliegenden Pilz um

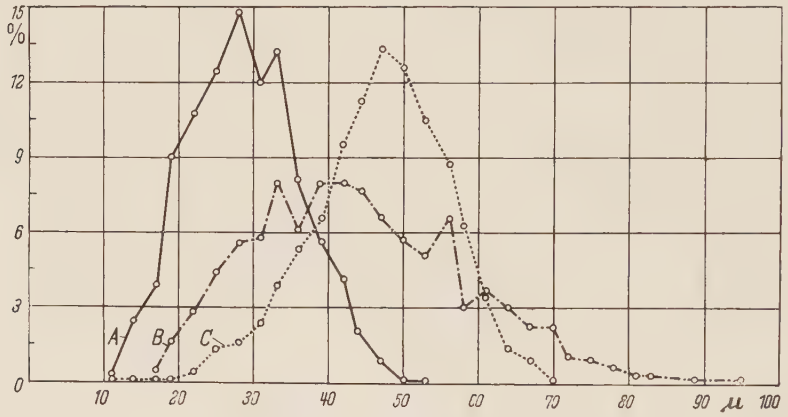

Abb. 6. Relative Häufigkeit der Zoosporangien- und Chlamydosporenmaße von 10 aus *Erica gracilis* isolierten *Phytophthora cinnamomi*-Herkünften.
A. Breite der Zoosporangien; B. Länge der Zoosporangien; C. Durchmesser kugeliger Chlamydosporen. Jeder Kurve liegen 2000 Messungen zugrunde

Tabelle 6

Größe der Zoosporangien
von 10 *Phytophthora*-Herkünften
(200 Messungen je Herkunft; Maße in Mikron)

Herkunft	Absolute Schwankung		Durchschnitt	
	Länge	Dicke	Länge	Dicke
8837	17— 78	14—47	41,5	29,2
8905	17—103	14—47	50,4	32,4
8911	19— 81	14—50	46,5	27,7
8919	19— 89	14—53	49,1	32,5
8923	19— 78	14—42	42,9	27,8
8925	17— 83	11—47	37,6	26,2
8930	25— 89	17—47	49,1	30,8
8934	17— 75	11—47	42,0	27,4
8936	17— 78	11—53	37,2	25,2
8938	17— 95	11—44	45,6	28,0

Phytophthora cinnamomi Rands handelt. Besonders wichtig für die Diagnose sind die auffallend starken Hyphenanschwellungen und die recht großen Chlamydosporen. Es sei erwähnt, daß MEHRLICH (1936) und WHITE (1937) *Phytophthora cinnamomi* als Synonym von *Phytophthora cambivora* (Petri) Buis. betrachten. Diese Auffassung konnte sich in der Literatur bisher jedoch nicht durchsetzen.

Phytophthora cinnamomi befällt eine große Anzahl von Pflanzenarten aus verschiedenen botanischen Familien (THORN und ZENTMYER 1954) und verursacht vor allem Wurzel- und Sproßbasisfäulen. Auch *Erica*-Arten sind aus der Literatur als Wirtspflanzen bereits bekannt. In Amerika wurde der Pilz an *Erica* sp. (GILL zit. nach TUCKER 1933), *E. regerminans* (ZENTMYER und MUNNECKE 1952) und *E. carnea* (TORGESON 1954) festgestellt. In England ruft er eine Wurzelfäule und Welkeerscheinungen an *E. hiemalis*, *E. nivalis* und *E. willmoreana* hervor (OYLER und BEWLEY 1936, 1937). Dagegen sollte *E. gracilis* nach den Angaben der englischen Autoren von *Phytophthora cinnamomi* nicht befallen werden. Wahrscheinlich ist diese Literaturstelle der Grund dafür, daß ein Zusammenhang zwischen den in England aufgetretenen Schäden und dem „*Erica*-Sterben" so lange Zeit nicht in Betracht gezogen wurde.

Infektionsversuche

Die Pathogenität der isolierten *Phytophthora cinnamomi* wurde in 11 Infektionsversuchen an *Erica gracilis* geprüft, und zwar an jüngeren und älteren Pflanzen und mit verschiedenen Infektionsmethoden. Außerdem wurden die Versuchsbedingungen, die Zusammensetzung der Pflanzerde und die Dichte des Inokulums variiert. Die Versuchspflanzen — insgesamt 2070 — stammten aus erstklassigen gesunden Beständen.

Methoden

Lokale Infektion am Sproß

Nach äußerlicher Desinfektion der Rinde wurde im unteren Drittel eines stärkeren Zweiges eine flache Rindenzunge abgelöst und dahinter ein Agarklötzchen (Möhrenschnitzelagar) aus der Randzone einer 2 Tage alten *Phytophthora*-Kolonie eingefügt. Die Infektionsstelle wurde mit feuchter Watte bedeckt und mit einem Heftpflasterstreifen verschlossen. Die Kontrollpflanzen erhielten sterile Agarklötzchen.

Besprühen der Wurzeln mit einer Zoosporensuspension

Eriken mit gut durchwurzelten Topfballen wurden vorsichtig aus den Töpfen herausgenommen, die Ballen mit einer Zoosporensuspension (S. 84) übersprüht und die Pflanzen dann sofort wieder in ihre Töpfe zurückgestellt. Die Wurzelballen der Kontrollpflanzen wurden mit dem Filtrat einer wäßrigen Aufschwemmung der gleichen Erde behandelt, die zur Förderung der Zoosporangienproduktion verwendet worden war.

Verseuchung der Pflanzerde

Phytophthora cinnamomi wurde in 500-cm³-Weithalskolben auf feuchtem Weißtorf mit Zusätzen von Sand, Strohhäcksel und Möhrenschnitzeln bei 22 bis 25 °C vorkultiviert.

Nach 4 Wochen hatte der Pilz das Substrat durchwachsen. Bei der Zusammenstellung der Eriken-Pflanzerde gingen wir von zwei in der Praxis gebräuchlichen Mischungen aus:

1. Schwarztorf — Weißtorf — Sand im Verhältnis 6 : 4 : 1.
2. Weißtorf : Sand im Verhältnis 9 : 1.

Wir ersetzten 2 oder 4 Teile Weißtorf durch das vom Pilz bewachsene Torfsubstrat und in den Kontrollen durch nicht beimpftes Torfsubstrat desselben Ansatzes.

Abb. 7. *Erica gracilis*, Lokalinfektion mit *Phytophthora cinnamomi* nach 10 Tagen

Versuch 1

Am 12. 3. 1959 wurden an 10 älteren Eriken je 2 Äste lokal infiziert. 10 Pflanzen dienten als Kontrolle. Die Eriken standen im Gewächshaus bei 20 bis 25 °C. Sie wurden am 29. 5. in 11-cm-Töpfe verpflanzt.

Nach 10 Tagen zeigten sich die ersten Symptome. Die Rinde um die Infektionsstellen färbte sich braun und einige Triebe welkten (Abb. 7). Nach 4 Wochen waren von den 20 infizierten Ästen 19 abgestorben. Allmählich griff der Pilz auch auf die anderen Zweige über. Nach $3^1/_2$ Monaten waren die infizierten Eriken tot. Die Kontrollpflanzen blieben gesund.

Versuch 2

Am 27. 4. 1959 wurden die Wurzelballen von 20 älteren Eriken mit einer Zoosporensuspension (3000 Zoosporen/ccm) übersprüht. 20 Pflanzen wurden mit dem Kontroll-Filtrat behandelt (S. 87). Die eine Hälfte der Eriken stand nach der Infektion im Gewächshaus bei 20 bis 25° C, die andere im Freiland. Am 29. 5. wurden alle in 11-cm-Töpfe verpflanzt.

Abb. 8. *Erica gracilis*, infiziert durch Besprühen der Wurzelballen mit einer Zoosporensuspension von *Phytophthora cinnamomi*, 7 Wochen nach Beginn des Versuches; rechts Kontrolle

Nach 7 Wochen ließen die infizierten Pflanzen eine starke Wachstumshemmung erkennen (Abb. 8). Nach 3 Monaten waren 15 abgestorben, 5 fahlgrün verfärbt. Im Freiland verlief die Krankheit zunächst langsamer, nach Eintritt warmen Sommerwetters jedoch schneller als im Gewächshaus. Die Kontrollpflanzen blieben gesund.

Versuch 3

Am 7. 4. 1959 wurden 90 bewurzelte Stecklinge in verseuchte Erde pikiert. Diese bestand aus Schwarztorf, von *Phytophthora* bewachsenem Torfsubstrat und Sand im Verhältnis 6 : 4 : 1. 90 Kontrollpflanzen erhielten nicht verseuchte Erde gleicher Zusammensetzung (S. 88). Der Schwarztorf und der Sand wurden gedämpft. Die Eriken standen im Gewächshaus bei 20 bis 25 °C.

Nach 6 Tagen welkte die Hälfte der infizierten Pflanzen. Nach 2 Wochen waren alle stark geschädigt und grau oder bräunlich verfärbt (Abb. 9); nach 4 Wochen waren sie abgestorben. Die Kontrollpflanzen gediehen sehr gut und blieben gesund.

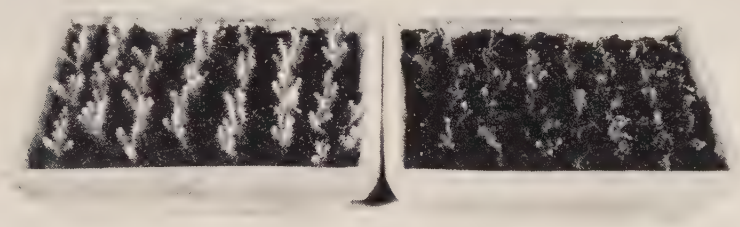

Abb. 9. Pikierte Jungpflanzen in einem mit *Phytophthora cinnamomi* verseuchten Substrat 2 Wochen nach Beginn des Versuches; links Kontrolle

Versuch 4

Am 7. 4. 1959 wurden 50 pikierte Jungpflanzen in verseuchte und 50 in unverseuchte Erde gepflanzt (8-cm-Töpfe). Die Zusammensetzung der Erde und die Versuchsbedingungen waren die gleichen wie bei Versuch 3.

Schon nach 6 Tagen begannen einige der infizierten Eriken zu welken. Nach 4 Wochen waren 48 abgestorben (Abb. 10). Die Kontrollpflanzen blieben gesund.

Versuch 5

Am 7. 4. 1959 wurden 50 ältere Eriken in verseuchte und 100 in nicht verseuchte Erde gepflanzt (12-cm-Töpfe)[1]). Die Zusammensetzung der Erde und die Versuchsbedingungen waren die gleichen wie bei Versuch 3.

[1]) 50 Kontrollpflanzen wurden verletzt. S. Seite 93.

Nach 2 Wochen ließen die infizierten Eriken eine deutliche Wachstumshemmung erkennen. Nach 10 Wochen waren 30 Pflanzen ganz oder partiell abgestorben, alle übrigen stark geschädigt (Abb. 11). Nach 3½ Monaten

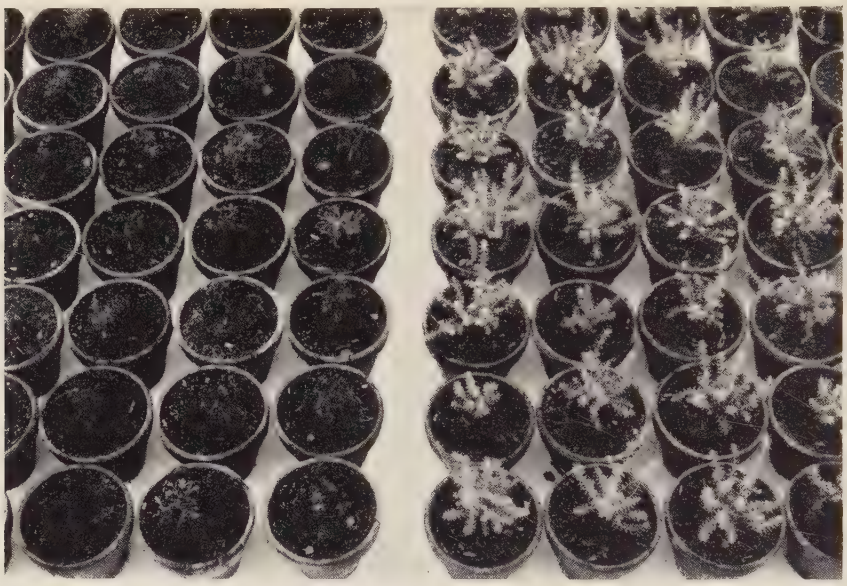

Abb. 10. Eingetopfte Jungpflanzen in einem mit *Phytophthora cinnamomi* verseuchten Substrat 4 Wochen nach Beginn des Versuches; rechts Kontrolle

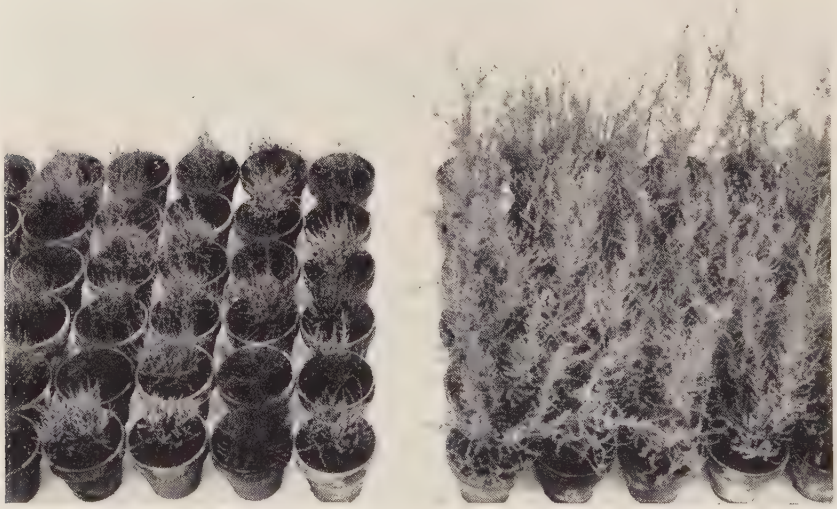

Abb. 11. Ältere Eriken in einem mit *Phytophthora cinnamomi* verseuchten Substrat 10 Wochen nach Beginn des Versuches; rechts Kontrolle

waren 46 Pflanzen tot, 4 im Absterben begriffen. Die Kontrollpflanzen blieben gesund.

Versuch 6

Am 28. 5. 1959 wurden 50 ältere Eriken in verseuchte und 50 in nicht verseuchte Erde verpflanzt (11-cm-Töpfe). Die Zusammensetzung der Erde war die gleiche wie bei Versuch 3. Im Gegensatz zu Versuch 5 standen die Eriken nicht im Gewächshaus, sondern im Freiland. Um das Anwachsen zu erleichtern, wurden sie in der ersten Zeit nach dem Verpflanzen schattiert gehalten.

Nach 3 Wochen war zu erkennen, daß die infizierten Eriken im Wachstum zurück blieben. Nach 3 Monaten waren alle vertrocknet. Die Kontrollpflanzen blieben gesund.

In den folgenden Versuchen gingen wir bei der Zusammenstellung der Pflanzerde von der zweiten der oben angegebenen Mischungen aus. Zugleich wurde die Konzentration des Inokulums herabgesetzt. In den Versuchen 9 und 10 wollten wir prüfen, ob sich *Phytophthora cinnamomi* auch in nicht gedämpftem Material durchzusetzen vermag.

Versuch 7

Am 21. 4. 1960 wurden 360 bewurzelte Stecklinge in verseuchte Erde pikiert. Diese bestand aus Weißtorf, von *Phytophthora* bewachsenem Torfsubstrat und Sand im Verhältnis 7 : 2 : 1. 180 Kontrollpflanzen erhielten nicht verseuchte Erde gleicher Zusammensetzung. Der Weißtorf und der Sand wurden gedämpft. Die Eriken standen in einem Gewächshaus mit stark schwankender Temperatur (12 bis 30 °C).

Nach 10 Tagen wurden 195 kranke Pflanzen gezählt. Nach 1½ Monaten waren 212, nach 3½ Monaten 293 Eriken tot. Die am Schluß des Versuches noch nicht abgestorbenen Pflanzen waren fahlgrün verfärbt und kümmerten. Von den Kontrollpflanzen gingen aus unbekannten Gründen 6 ein (*Phytophthora* konnte nicht isoliert werden), die übrigen (174) waren gesund und frohwüchsig.

Versuch 8

Am 11. 4. 1960 wurden 140 ältere Eriken in verseuchte und 70 in nicht verseuchte Erde verpflanzt (11-cm-Töpfe). Die Zusammensetzung der Erde war die gleiche wie bei Versuch 7. Die Eriken standen zunächst in einem Frühbeetkasten, dessen Fenster am 18. 5. abgenommen wurden. Die Temperatur betrug bis Anfang Mai überwiegend 5 bis 10 °C, bis Ende Mai überwiegend 10 bis 20 °C; im Juni sank sie nachts noch mehrfach unter 10 °C ab. Am 23. 6. wurden die Pflanzen auf Freilandbeete gebracht.

Mitte Juni waren noch kaum Symptome zu erkennen. 8 Wochen später waren alle infizierten Eriken abgestorben. Die Kontrollpflanzen blieben gesund.

Versuch 9

Am 26. 7. 1960 wurden 240 bewurzelte Stecklinge in verseuchte und 120 in nicht verseuchte Erde pikiert. Die Zusammensetzung der Erde war die gleiche wie bei Versuch 7, doch wurde der Weißtorf nicht gedämpft. Die Pflanzen standen in einem Frühbeetkasten. Die Temperatur betrug im August überwiegend 10 bis 25 °C und im September überwiegend 8 bis 20 °C.

Nach 8 Wochen waren 225 infizierte Eriken abgestorben, 12 stark geschädigt. Von den Kontrollpflanzen wuchsen 2 nicht an, alle anderen (118) entwickelten sich gut und blieben gesund.

Versuch 10

Am 6. 4. 1960 wurden 20 ältere Eriken in verseuchte und 20 in nicht verseuchte Erde verpflanzt (11-cm-Töpfe). Die Zusammensetzung der Erde war die gleiche wie bei Versuch 7. Der Weißtorf wurde nicht gedämpft. Die Versuchsbedingungen waren die gleichen wie bei Versuch 8.

Bis Mitte August waren alle infizierten Eriken abgestorben. Die Kontrollpflanzen blieben gesund.

Versuch 11

Am 20. 10. 1959 wurden 300 ältere Eriken mit 30 Isolaten von *Phytophthora cinnamomi* aus verschiedenen Gärtnereien infiziert. Die Methodik und die Zusammensetzung der Pflanzerde waren die gleichen wie bei Versuch 3. Die Kontrollen (30 Pflanzen) erhielten nicht verseuchte Erde. Die Eriken standen im Gewächshaus, die Temperatur betrug überwiegend 15 bis 25 °C.

Von diesen 30 Pilzherkünften verhielten sich 29 recht einheitlich: Nach 20 Tagen zeigten sich die ersten Symptome. Nach 3 Monaten waren jeweils etwa $^2/_3$ der Pflanzen abgestorben, die übrigen ließen eine starke Wurzelfäule und eine entsprechende Wachstumshemmung erkennen. Bei einer der 30 Pilzherkünfte war der Krankheitsverlauf deutlich verzögert.

Die künstlich infizierten Pflanzen zeigten die gleichen Symptome, wie wir sie bei spontanem Auftreten des „*Erica*-Sterbens" beobachteten. Bei Reisolierungsversuchen wurde einheitlich eine *Phytophthora* erhalten, die mit den Ausgangskulturen morphologisch übereinstimmte. Damit war die Pathogenität der von uns isolierten *Phytophthora cinnamomi* bewiesen.

In den Versuchen 1, 3, 4, 5 und 6 wurden 2 *Pestalotiopsis*-Stämme neben *Phytophthora* auf ihre Pathogenität geprüft, nämlich eine eigene Isolierung und eine von Herrn Dr. HEIMANN, Geisenheim, freundlicherweise zur Verfügung gestellte Kultur. Jedes dieser Versuchsglieder, die zusammen 500 Pflanzen umfaßten, hatte den gleichen Umfang wie die jeweilige *Phytophthora*-Parzelle. Beim Ansetzen des Versuches 5 wurde die Hälfte der Kontrollpflanzen und der Eriken, die mit *Pestalotiopsis* infiziert werden sollten,

stark verletzt: Von den Wurzelballen wurden seitlich und unten 1 bis 1,5 cm dicke Stücke abgeschnitten. Außerdem wurde die Rinde am Stengelgrund mit Sandpapier angescheuert. Die Versuche liefen bis zum 31. 10. 1959, also 5 bis 7½ Monate lang, dann mußten sie aus Platzmangel abgebrochen werden. Bis dahin waren keinerlei Krankheitserscheinungen festzustellen; die Eriken, die wir mit *Pestalotiopsis* zu infizieren versucht hatten, unterschieden sich von den Kontrollpflanzen nicht im mindesten.

In den Versuchen 3, 4 und 5 wurde ferner geprüft, wie sich die Eriken verhalten, wenn die Pflanzerde mit *Phytophthora* und *Pestalotiopsis* zugleich infiziert wird (190 Versuchspflanzen). In der bei Versuch 3 auf S. 89 angegebenen Erdmischung wurden 2 Teile Weißtorf durch *Phytophthora*- und 2 Teile durch *Pestalotiopsis*-Infektionsmaterial ersetzt. Es traten die gleichen Symptome auf, wie an den Pflanzen, deren Erde mit *Phytophthora* allein verseucht worden war. Die Krankheit verlief etwas langsamer, was jedoch nicht überraschen kann, da die Konzentration des *Phytophthora*-Inokulums um die Hälfte niedriger war als in den Vergleichsparzellen. Für ein krankheitsförderndes Zusammenspiel von *Phytophthora* und *Pestalotiopsis* ergaben sich keine Anzeichen.

Bekämpfung der *Phytophthora*-Krankheit

Eine sichere Bekämpfung der *Phytophthora*-Krankheit ist gegenwärtig allein durch hygienische Maßnahmen möglich. Der Gärtner, dessen Eriken gesund sind, sollte vor allem darauf bedacht sein, den Erreger nicht mit kranken Pflanzen einzuschleppen. In verseuchten Betrieben ist es zweckmäßig, die Eriken in Torf zu kultivieren; denn frischer Torf ist nach unserer bisherigen Kenntnis frei von *Phytophthora cinnamomi*. Nadelerde dagegen, die bei der Azaleenkultur abfällt, sollte für Eriken nur gedämpft verwendet werden. Ob chemische Bodenentseuchungsmittel in diesem speziellen Falle mit Erfolg eingesetzt werden können, und wie das im einzelnen zu geschehen hätte, wissen wir noch nicht. Alles Gerät, mit dem der Torf oder die entseuchte Erde in Berührung kommt, ist zu desinfizieren. Das gleiche gilt für die Stecklingskisten und die Töpfe. Die Erikenbeete sind laufend zu kontrollieren und kranke Pflanzen schnell zu entfernen.

Alle diese Maßnahmen können jedoch nur zu Teilerfolgen führen, wenn die Eriken in den ersten Phasen der Kultur in Beete pikiert oder ausgepflanzt werden, deren Unterboden mit *Phytophthora* verseucht ist, wie es in unserer norddeutschen „Versuchsgärtnerei" der Fall war (siehe S. 78 und S. 80). Derartige Anzuchtbeete, in denen das eigentliche Substrat in relativ dünner Schicht über gewachsenem oder angeschüttetem Boden liegt, sind in der Praxis weit verbreitet, und manches deutet darauf hin, daß sie in vielen, vielleicht sogar in den meisten Betrieben, die wichtigste Infektionsquelle darstellen. Der Pilz kann zwar durch Dämpfen des Unterbodens und sorgfältiges Desinfizieren der Seitenwände abgetötet werden, doch dürfte es sicherer und auf lange

Sicht einfacher sein, die Beete nach unten durch eine Betonschicht abzuschließen oder die Eriken auf tischartigen Stellagen zu kultivieren.

In der erwähnten norddeutschen Gärtnerei wurde der Unterboden eines Teils der Pikierbeete, sobald wir uns über die Krankheitsursache klar waren, mit einer Plastikfolie abgedeckt. Diese Maßnahme kam für die aus der Januarvermehrung 1959 hervorgegangenen Pflanzen gerade noch rechtzeitig. Der Erfolg war eindrucksvoll: Im Gegensatz zu den katastrophalen Verlusten der Vorjahre betrug der Ausfall bis zum Verkauf im Herbst 1960 nur rund 1 %[1]). Von den Eriken der Julivermehrung 1958 dagegen, die schon vorher pikiert worden waren, gingen über 80 % ein.

Die praktisch wichtige Frage, ob die Freilandbeete, auf denen kranke Eriken in Töpfen eingesenkt waren, mit *Phytophthora cinnamomi* verseucht sind, und ob dies gegebenenfalls für die nächstjährige Kultur eine Gefahr bedeutet, ist noch nicht völlig geklärt. Alle bisher vorliegenden Beobachtungen und Versuchsergebnisse sprechen jedoch dagegen. Ob die *Phytophthora*-Krankheit mit Stecklingen von gesund aussehenden Eriken übertragen werden kann, läßt sich ebenfalls noch nicht sicher entscheiden. In der Praxis haben wir dafür bisher keinerlei Anzeichen finden können. Auch theoretisch ist eine solche Übertragung zumindest dann äußerst unwahrscheinlich, wenn für die Vermehrung ausgesuchte Mutterpflanzen verwendet werden, die schon wenigstens einmal geblüht haben. Dies ist im übrigen auch aus pflanzenbaulichen Gründen dringend erwünscht.

Diskussion

Der Begriff „*Erica*-Sterben" ist ein Behelf. Er kennzeichnet ein Phänomen, aber er sagt nichts über die Ursache. Die Symptome, die an den absterbenden Eriken auftreten, sind nicht spezifisch; jede stärkere Störung des Wasser- und Nährstoffnachschubes kann zu den gleichen Krankheitsbildern Anlaß geben, so daß als Ursache des „*Erica*-Sterbens" biotische und abiotische Faktoren in großer Zahl vorstellbar sind. Daraus ergibt sich, daß eine Untersuchung immer nur den Einzelfall oder eine Reihe von Einzelfällen klären, nicht aber das Problem als ganzes definitiv lösen kann. In diesem Sinne verstehen wir auch die vorliegende Mitteilung als einen B e i t r a g zur Frage des „*Erica*-Sterbens" (vgl. SAUTHOFF, KRÖBER und MAATSCH 1959).

Die bei weitem wichtigste Rolle in diesem Komplex spielt der Pilz *Phytophthora cinnamomi* Rands, der in rund 90 % der von uns im Jahre 1959 untersuchten Krankheitsfälle nachgewiesen wurde. Unsere Versuche zeigen, daß er an *Erica gracilis* stark pathogen ist und selbst überdurchschnittlich gut

[1]) Daß der Bestand nicht ganz krankheitsfrei bleiben würde, zeigte sich schon nach dem Abräumen der Pikierbeete. Die stark verfilzten Wurzelballen der pikierten Eriken werden vor dem Eintopfen mit einem Messer auseinander geschnitten. Dabei war die Folie an einigen Stellen durchstochen worden. Mit dem Messer wurden Unterbodenteilchen hochgezogen und an den Wurzeln abgestreift. Mit dieser Deutung steht im Einklang, daß die Krankheit erst n a c h dem Eintopfen auftrat.

kultivierte, durchaus nicht geschwächte Pflanzen anzugreifen und abzutöten vermag. Die klimatischen Voraussetzungen dafür treten im normalen Ablauf der Kultur regelmäßig ein. Das sogenannte *Erica*-Sterben ist also in den meisten Fällen nichts anderes als eine echte, bodenübertragbare Infektionskrankheit.

Von den 5 Krankheitsfällen, in denen wir *Phytophthora cinnamomi* nicht nachweisen konnten (S. 84), ist einer wahrscheinlich auf grobe Düngungsfehler und technische Störungen der Wasserversorgung, ein anderer vermutlich auf pflanzenunverträgliche Bestandteile des Gießwassers zurückzuführen. Über die Krankheitsursache in den 3 übrigen Fällen wissen wir nichts.

Nach Heimann (1960) besitzt die *Phytophthora*-Krankheit ihre Bedeutung erst seit kurzem. Der Autor spricht von „zunehmender Ausbreitung". Diese ist nach seinen Angaben von 1956 bis 1958 sehr langsam, dann aber fast schlagartig verlaufen. Bis 1958, so heißt es, sei *Pestalotia versicolor* der häufigste Erreger des „*Erica*-Sterbens" gewesen, zumindest im Frankfurter Anbaugebiet. Demnach hätte sich die Krankheitsursache in der Mehrzahl der Betriebe gerade zu Beginn unserer Untersuchungen, von einem Jahr zum anderen, geändert. Gegen die Angaben Heimanns spricht aber mindestens zweierlei:

Erstens kann der Autor bis Ende 1958 noch nicht gewußt haben, daß eine *Phytophthora* als Krankheitserreger an *Erica gracilis* eine Rolle spielt; denn er hat das Problem „*Erica*-Sterben" ja noch 1959 als „endgültig geklärt" bezeichnet, ohne einen Pilz dieser Gattung zu erwähnen (Heimann 1959 b). Wenn er schon vorher eine *Phytophthora* festgestellt hat (Heimann 1960), so muß er ihr Vorkommen als zufällig betrachtet haben. Wir glauben nicht, daß solche Befunde sichere Rückschlüsse auf die Häufigkeit der *Phytophthora*-Krankheit in der Zeit vor unserer Erhebung (1959) zulassen, zumal der Autor über den Pilz selbst, die Technik des Nachweises und vor allem über die Zahl der von ihm erfaßten Betriebe keine Angaben macht.

Zweitens hat Heimann bis heute nicht nachweisen können, daß *Pestalotiopsis* an *Erica gracilis* pathogen ist, während es andererseits außer Zweifel steht, daß die Symptome der von ihm beschriebenen *Erica*-Welke, die er *Pestalotiopsis* zuschreibt, von *Phytophthora cinnamomi* hervorgerufen werden können.

Heimann (1960) hält die Pathogenität von *Pestalotiopsis* freilich für gesichert. Er beschreibt zwei Infektionsversuche: In dem ersten wurden je 40 Eriken im Alter von sechs und von zwölf Monaten in ein mit *Pestalotiopsis* verseuchtes Substrat gepflanzt. 40 Kontrollpflanzen erhielten nicht verseuchte Erde gleicher Zusammensetzung. Die Eriken waren gesund und hatten weiße Wurzeln. Soweit ersichtlich, standen sie unter praxisüblichen Bedingungen. Kulturfehler, die nach Heimann (1959 a) auch für künstliche Infektionen mit *Pestalotiopsis* unerläßlich sind, wurden offenbar nicht eingeschaltet. Dennoch zeigten sich nach 8½ Monaten erste Symptome. Nach 14 Monaten waren von den 40 älteren Pflanzen 32, von den 40 jüngeren 8 eingegangen. Die

Untersuchung der abgestorbenen Eriken führte allerdings zu einem bemerkenswerten Ergebnis: „die Wurzeln waren frei von *Phytophthora* oder zeigten nur einen geringen Befall dieses Pilzes" (HEIMANN 1960). Der Versuch, der als Beleg für die Pathogenität von *Pestalotiopsis* angeführt wird, war also mit *Phytophthora* verunreinigt! Der zweite Infektionsversuch sollte die Pathogenität von *Pestalotiopsis* und zugleich die Übertragung dieses Pilzes mit Stecklingen beweisen. Da er jedoch ohne Kontrolle angesetzt wurde, braucht er hier nicht diskutiert zu werden. Anderes Beweismaterial hat HEIMANN bisher nicht veröffentlicht. Infektionsversuche, die STAHN und REIMANN (1958) mit *Pestalotiopsis* durchführten, verliefen, wie unsere eigenen (S. 92), stets negativ. Wir sehen daher bis heute keinen Grund, *Pestalotiopsis* in praktische Überlegungen zur Frage des „*Erica*-Sterbens" einzubeziehen.

Damit stellt sich die Frage, welche Bedeutung dem *Erica*-Wurzelsterben in Deutschland zukommt, denn diese zuerst in der Schweiz beschriebene Krankheit will HEIMANN (1959 b) ja auch im Anbaugebiet um Frankfurt festgestellt haben. Als Erreger wird von ihm *Olpidium* angegeben. Wir selbst haben Absterbeerscheinungen an *Erica gracilis*, die wir auf diesen Pilz hätten zurückführen können, in deutschen Gärtnereien bisher nicht gefunden.

Wichtige Kennzeichen des *Erica*-Wurzelsterbens sind eine starke Hemmung des Triebwachstums und ein sehr langsamer Krankheitsverlauf; die Pflanzen bleiben kurz und buschig. Die Triebspitzen färben sich anfänglich gelb und dann rötlich. Diese Verfärbung greift allmählich auch auf die mittleren und unteren Teile der Zweige über. Bei warmem Sommerwetter können die verfärbten Triebe vertrocknen, was wiederum an den Spitzen beginnt. Die Wurzeln kranker Pflanzen sind braun und abgestorben (STALDER und SCHÜTZ 1957).

HEIMANN (1959 b) hat die Krankheitsbilder, die er selbst beobachtet hat, nicht beschrieben, sondern nur mitgeteilt, er habe „das *Erica*-Wurzelsterben mit den bekannten Symptomen" festgestellt. Aber er hat eine kranke Pflanze abgebildet: Sie ist kräftig entwickelt und hat peitschenförmige Langtriebe; eine Hemmung des Triebwachstums ist nicht zu erkennen. Daß er das *Erica*-Wurzelsterben vor sich gehabt hat, ist nach dieser Abbildung ganz unwahrscheinlich.

Auch ohne einen so offensichtlichen Widerspruch ließe seine Mitteilung allerdings keine sicheren Schlüsse zu, da das *Erica*-Wurzelsterben von der *Phytophthora*-Krankheit, wie sie im Frühjahr und Frühsommer auftritt (Abb. 2), nicht leicht zu unterscheiden ist. In beiden Fällen sind die Wurzeln gebräunt und die kranken Pflanzen infolge einer anhaltenden Hemmung des Triebwachstums stark gestaucht. Von der *Phytophthora*-Krankheit und der Möglichkeit einer Verwechslung wußte der Autor seinerzeit aber noch nichts.

Daß HEIMANN in gebräunten Wurzeln Zoosporangien und Dauersporen eines *Olpidium* beobachtet hat, kann die Bedenken gegen seine Diagnose, die sich aus den abgebildeten Symptomen ergeben, nicht zerstreuen, zumal anscheinend nicht jedes *Olpidium*, das in *Erica*-Wurzeln gefunden wird, auch

pathogen sein muß. Wir hatten 1960 Gelegenheit, Eriken zu beobachten, deren Wurzeln stark mit einer *Olpidium-(Pleotrachelus-)*Art besetzt waren.[1]) Die Pflanzen wurden reichlich und überdies sehr stickstoffbetont gedüngt (vgl. Stalder und Schütz 1957). Dennoch blieben sie bis zum Schluß der Kultur gesund; Wuchs und Blüte waren normal. Dies zeigt, daß der mikroskopische Befund Heimanns durch den Nachweis der Pathogenität hätte gesichert werden müssen. Das aber ist nicht geschehen.

Diese Einwände berühren die in der Schweiz gemachten Untersuchungen nicht. Daß das *Erica*-Wurzelsterben in Deutschland aufgetreten ist, wie Heimann behauptet, wird durch die von ihm bisher veröffentlichten Feststellungen jedoch nicht bewiesen.

Zusammenfassung

1. Bei der Kultur von *Erica gracilis*, die in Deutchland beträchtliche wirtschaftliche Bedeutung hat, kommt es häufig zu großen Verlusten durch das sogenannte *Erica*-Sterben.

2. Es wurden kranke und abgestorbene Eriken aus 40 Gärtnereien in Nord-, West- und Süddeutschland untersucht. In 35 von diesen Betrieben wurde als Erreger der Absterbeerscheinungen *Phytophthora cinnamomi* Rands festgestellt.

3. Die Symptome und der Verlauf der *Phytophthora*-Krankheit werden geschildert. Sie beginnt im typischen Falle als Wurzelfäule. Auch der Stengelgrund kann geschädigt sein.

4. Die morphologischen Merkmale der isolierten *Phytophthora cinnamomi* und ihr Verhalten in der Kultur werden beschrieben.

5. Die Pathogenität des Pilzes wird durch Infektionsversuche und Reisolierungen nachgewiesen. Er vermag gesunde, fachgerecht kultivierte Eriken zu befallen.

6. Zur Bekämpfung der *Phytophthora*-Krankheit werden hygienische Maßnahmen vorgeschlagen.

7. Die Bedeutung anderer, als Erreger von Absterbeerscheinungen an *Erica gracilis* in Deutschland genannter Pilze wird diskutiert.

Summary

1. The culture of *Erica gracilis* has considerable economical importance in Germany; but there often occur heavy losses caused by the so-called "*Erica*-Sterben" (*Erica*-dying).

[1]) Für die Bestimmung danken wir Herrn Dr. A. Gaertner, Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz der Universität Göttingen.

2. Dying and dead *Erica*-plants from 40 horticultural establishments in the North, the West, and the South of Germany have been investigated. In 35 of these nurseries *Phytophthora cinnamomi* Rands has been isolated as pathogen involved in the disease.

3. The symptoms and the progress of the *Phytophthora*-disease are described. Ordinarily it starts as a root-rot. The stembase may be seized too.

4. The morphological characteristics of *Phytophthora cinnamomi* isolated from *Erica gracilis* and its behaviour in culture are described.

5. The pathogenicity of the fungus has been demonstrated by infection experiments and reisolations. It is able to attack healthy *Erica*-plants in best condition.

6. Hygienic measures are proposed for controlling the *Phytophthora*-disease.

7. The roll of other fungi mentioned in Germany as possible causes of dieback on *Erica gracilis* is discussed.

Die Untersuchungen wurden durch den Herrn Niedersächsischen Minister für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten finanziell unterstützt, wofür auch an dieser Stelle gedankt sei.

Fräulein EVAMARIA KRÜGER und Herrn H. KNIPPEL, Berlin, sowie Herrn K. ZIMMER und Herrn E. KAUNE, Hannover, danken wir für ihre Mitarbeit bei der Durchführung der Versuche, Herrn E. SCHÄLOW, Berlin, für die Anfertigung der photographischen Aufnahmen.

Literaturverzeichnis

CRANDALL, B. S., G. F. GRAVATT, and M. M. RYAN, 1945: Root disease of *Castanea* species and some coniferous and broadleaf nursery stocks, caused by *Phytophthora cinnamomi*. Phytopathology **35**, 162—180.

GLEISBERG, W., 1930: Die Bodensäure als Vegetationsfaktor in der Erikenkultur. Der Blumen- u. Pflanzenbau **45**, 146—150.

HEIMANN, M., 1956: Untersuchungen über das Erikensterben. Gartenwelt **56**, 155—157.

— —, 1957: Erikensterben — Ursache und Bekämpfung. Gartenwelt **57**, 222—224.

— —, 1959 a: Über die Pathogenität von *Pestalozzia versicolor* Speg., einem Erreger des Erikensterbens. Verh. IV. Intern. Pflanzenschutz-Kongreß Hamburg 1957. **1** (Braunschweig), 57—61.

— —, 1959 b: Ist das Problem des „*Erica*-Sterbens" endgültig geklärt? Gartenwelt **59**, 23—25.

— —, 1960: Nochmals: Problem „*Erica*-Sterben". Gartenwelt **60**, 122—124.

KRÖBER, H., W. SAUTHOFF und R. MAATSCH, 1959: Untersuchungen über das „*Erica*-Sterben". Nachr.bl. dtsch. Pfl.schutzd. (Braunschweig) **11**, 139—141.

MEHRLICH, F. P., 1936: Pathogenicity and variation in *Phytophthora* species causing heart rot of pineapple plants. Phytopathology **26**, 23—43.

Moreau, C., et M. Moreau, 1952: Étude mycologique de la maladie de l'encre du chêne. Rev. Path. vég., Ent. agric. France **31**, 201—231.

Osterwalder, A., 1957: *Olpidium* in Wurzeln von *Erica gracilis* Salisb. Z. Pfl.krankh. **64**, 328—331.

— —, F. Schütz und W. Vogel, 1955: Ursache des *Erica*-Sterbens. Schweiz. Gärtnerztg. **58**, Nr. 27.

*Oyler, E., and W. F. Bewley, 1936: A disease of cultivated heaths. Ann. Rept. Exp. Stat. Cheshunt 1935, 50—56.

— —, and — —, 1937: A disease of cultivated heaths caused by *Phytophthora cinnamomi* Rands. Ann. appl. Biol. **24**, 1—16.

Pape, H., 1955: Krankheiten und Schädlinge der Zierpflanzen und ihre Bekämpfung. 4. Aufl. Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg, 559 S.

Sauthoff, W., H. Kröber und R. Maatsch, 1959: Die *Phytophthora*-Krankheit der *Erica gracilis*. Ein Beitrag zur Frage des „*Erica*-Sterbens". Gartenwelt **59**, 321—323.

Stahn, B., 1956: Das sogenannte *Erica*-Sterben und seine vermutlichen Ursachen. Der Deutsche Gartenbau **3**, 79—81.

— —, und Erna Reimann, 1957: Das sogenannte *Erica*-Sterben und seine Ursachen. Der Deutsche Gartenbau **4**, 186—189.

— —, und — —, 1958: Das sogenannte *Erica*-Sterben und seine Ursachen. Schriften zur Förderung des Gartenbaus H. **11**, 15—23.

Stalder, L., 1958: Das *Erica*-Wurzelsterben — eine Kulturkrankheit. Deutsche Gärtnerbörse **58**, 188.

— —, und F. Schütz, 1957: Untersuchungen über die kausalen Zusammenhänge des *Erica*-Wurzelsterbens. Phytopath. Z. **30**, 117—148.

Stamps, D. J., 1953: Oospore production in paired cultures of *Phytophthora* species. Trans. Brit. mycol. Soc. **36**, 255—259.

Thorn, W. A., and G. A. Zentmyer, 1954: Hosts of *Phytophthora cinnamomi* Rands. Plant Dis. Reptr. **38**, 47—52.

*Torgeson, D. C., 1954: Root rot of Lawson Cypress and other ornamentals caused by *Phytophthora cinnamomi*. Contrib. Boyce Thompson Inst. **17**, 359—373.

*Tucker, C. M., 1933: The distribution of the genus *Phytophthora*. Res. Bull. Mo. agric. Exp. Stat. **184**, 80 pp.

Vogel, H., 1960: Briefliche Mitteilung.

Waterhouse, G. M., 1956: The genus *Phytophthora*. C. M. I., Kew, Misc. Public. **12**, 120 pp.

*White, R. P., 1937: *Rhododendron* wilt and root rot. Bull. N. J. agric. Exp. Stat. **615**, 32 pp.

Zentmyer, G. A., and D. E. Munnecke, 1952: *Phytophthora* root rot of nursery stock. Plant Dis. Reptr. **36**, 211—212.

— —, W. C. Snyder, and H. N. Hansen, 1950: Use of natural media for inducing sporulation in fungi. Phytopathology **40**, 971.

Die mit * gekennzeichneten Arbeiten lagen nur im Referat vor.

Buchbesprechung

Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem, **Heft 102:**

Gruch, W., und P. Steiner, Zur Toxikologie der Insektizide (Literaturübersicht). 2. Teil: Toxaphen-Gruppe. 1960, 64 Seiten. Kartoniert DM 11,30.

Die mit Heft 95 der „Mitteilungen" begonnene Literaturübersicht wird in vorliegendem Heft mit gleicher Gründlichkeit für die chlorierten Terpene, Toxaphen und Stroban, weitergeführt. Aus über 200 Literaturstellen wird neben kurzen Angaben über Chemie und Anwendung das Bekannte über die Toxizität für die verschiedenen Gruppen der Wirbeltiere wie auch für Schnecken, Wasserinsekten usw. zusammengestellt. Anschließend wird die Möglichkeit von Sekundärvergiftungen, die Pharmakologie und Biochemie, insbesondere Speicherung und Ausscheidung, und die Pathologie besprochen. Genauere Berichte über 4 Todesfälle und 5 weitere akute Vergiftungen, sowie über Toxaphenvergiftungen beim Hunde deuten darauf hin, daß klinisch einwandfrei untersuchte Vergiftungsfälle selten sind. Die möglichen Gegenmaßnahmen bei Vergiftungen, sowie Angaben über das Rückstandsproblem und die Toleranz bzw. Karenzwerte beschließen die Darstellung, die zu neun Zehntel dem Toxaphen gewidmet ist. Für Erwägungen und Diskussionen über hygienische Nebenwirkungen von Insektiziden bietet die vorliegende Zusammenstellung eine wertvolle Hilfe.

Fuchs, Göttingen

Wir empfehlen zum Bezug:

Anzeiger für Schädlingskunde

vereinigt mit „Schädlingsbekämpfung"

Zugleich Nachrichtenblatt der „Deutschen Gesellschaft für angewandte Entomologie e. V."

Begründet 1925 von K. Escherich und E. Stellwaag. Herausgebergemeinschaft: Reg.-Rat Dr. W. Frey, Berlin, Prof. Dr. H. Kemper, Berlin, Oberreg.-Rat Dr. E. Leib, Bonn, Prof. Dipl.-Ing. Dr. E. Schimitschek, Hann. Münden, Prof. Dr. W. Zwölfer, München. Schriftleitung: Prof. Dipl.-Ing. Dr. E. Schimitschek.

Die Zeitschrift hat es sich zur Aufgabe gemacht, alle Probleme einer wirksamen Bekämpfung der Schädlinge sowie die Kenntnisse über die Arten und Lebensweisen und die Methoden ihrer Bekämpfung interessant und anregend in Originalarbeiten und Berichten deutscher und ausländischer Forscher darzustellen. Die Originalarbeiten haben teils Zusammenfassungen in deutscher und englischer Sprache. Den beteiligten Berufskreisen bietet sie eine umfassende Orientierung über das Gesamtgebiet der Bekämpfung tierischer Schädlinge in landwirtschaftlichen, gärtnerischen und forstlichen Kulturen sowie über die Gebiete des Gesundheits- und Vorratsschutzes. Neben den Originalarbeiten ergänzen kleine Mitteilungen, Tagungsberichte, Buchbesprechungen, Personalien, Kurzberichte und eine umfassende Patentschau den reichhaltigen Inhalt.

Erscheinungsweise: monatlich. Bezugspreis vierteljährlich DM 12,—. Einzelheft DM 5,—.

Zeitschrift für Kulturtechnik

Ergebnisse der Forschung und ihre Anwendung bei Planung und Durchführung der Standortsverbesserung, Flurgestaltung, Wasserregelung und Abwasserverwertung

Herausgegeben von Prof. Dr. C. Husemann, Berlin, Prof. Dr. Dr. h. c. Dipl.-Ing. E. Ramsauer, Wien, und Prof. Dr.-Ing. Dr.-Ing. E. h. M. Schirmer, Bonn, unter Mitarbeit zahlreicher Wissenschaftler aus dem In- und Ausland.

Die Zeitschrift ist ein auf internationaler Zusammenarbeit gegründetes Fachorgan, das eine maßgebliche Übersicht über alle speziellen Probleme der kulturtechnischen Forschung und ihre Nutzanwendung in der Praxis bietet. In ihr werden Originalarbeiten, die stets eine deutsche und englische Zusammenfassung enthalten, Referate der einschlägigen in- und ausländischen Literatur und Buchbesprechungen veröffentlicht.

Erscheinungsweise: zweimonatlich. Jährlich 6 Hefte im Umfang von je 4 Druckbogen (64 Seiten). Die Hefte eines Kalenderjahres bilden einen Band. Abonnementspreis halbjährlich DM 28,—. Einzelpreis je Heft DM 10,—.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur

Herausgegeben von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem

Bearbeitet von Reg.-Rat Dr. J. BÄRNER

1940—1945	Zwei Bände	1356 Seiten. Broschiert DM 126,—
1946—1947		501 Seiten. Broschiert DM 66,—
1948—1949		730 Seiten. Broschiert DM 115,—
1950		479 Seiten. Broschiert DM 59,—
1951		464 Seiten. Broschiert DM 60,—
1952		474 Seiten. Broschiert DM 65,—
1953		569 Seiten. Broschiert DM 94,—

Weitere Bände befinden sich in Vorbereitung. Durch diese Literaturzusammenstellungen werden der wissenschaftlichen Forschung wie der Praxis die Erfahrungen und Entwicklungen des Auslandes zugänglich gemacht, und es dokumentiert sich darin die Bedeutung, die dem Pflanzenschutz überall in der Welt beigemessen wird.

Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem

Heft 100: **Das Trichogramma-Problem**
Von Dr. K. MAYER und Dr. W. QUEDNAU
50 Seiten mit zahlreichen Abbildungen im Text und auf Tafeln.
Kartoniert DM 9,60

Heft 101: **Standorteinflüsse und natürliche Feinde als Begrenzungsfaktoren von Melolontha-Larvenpopulationen eines Waldgebietes (Forstamt Lorsch, Hessen)**
(*Coleoptera: Scarabaeidae*)
Von Dr. O. F. NIKLAS
60 Seiten mit 9 Abbildungen. Kartoniert DM 8,30

Heft 102: **Zur Toxikologie der Insektizide**
Literaturübersicht / 2. Teil: Toxaphen-Gruppe
Von Dr. W. GRUCH und Dr. P. STEINER
64 Seiten mit zahlreichen Tabellen. Kartoniert DM 11,30

Heft 103: **Bacillus thuringiensis Berliner**
Über seine Biologie, Pathogenie und Anwendung in der biologischen Schädlingsbekämpfung
(In memoriam Dr. ERNST BERLINER, 1880—1957)
Von Dr. A. KRIEG
79 Seiten mit zahlreichen Tabellen und Abbildungen. Kartoniert DM 12,40

Ab 1. Juli 1961 wurden von der Biologischen Bundesanstalt die Preise für die Jahrgänge 1914 bis 1953 der „Bibliographie der Pflanzenschutzliteratur" und die Hefte 1 bis 99 der „Mitteilungen der BBA" neu festgesetzt. Die Preisliste kann beim Verlag angefordert werden.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG